

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie

Studijní obor: Anorganická chemie



Bc. Luděk Míka

Cross-bridged cyklamy jako ligandy dvojmocného manganu

Cross-bridged cyclams as manganese(II) chelators

Diplomová práce

Školitel: Doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracoval samostatně, a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, srpen 2013

Poděkování

Děkuji...

...všem ve svém okolí za velkou podporu v mém studiu, bez této podpory by ani zdaleka nemohlo být možné dokončit mé studium a tuto práci v takovém rozsahu, v jakém je

...chemii za to, že je taková, jaká je, a že i když to tak občas nevypadá, funguje vždy bezchybně a správně

...profesoru Hermannovi za podněty a rady ohledně syntézy a měření

...panu Goldovi za to, že nás nenechal ani v době nejintenzivnější tvořivé činnosti vyhladovět

...doktorce Císařové za změření rentgenových struktur

...firmě Linde za to, že byl vždy dostatek kapalného dusíku (nejen na přípravu zmrzliny)

...osazenstvu „velkého“ i „malého labu“ za podnětnou pracovní atmosféru

...Ondrovi a Honzovi za měření dalších a dalších hmotnostních spekter

...školiteli za to, že byl ve dne v noci ochoten poslouchat další a další nápady a neúspěchy a za to, že mne k této práci vůbec přivedl

Tato práce byla spolufinancována z grantu GAČR P207/11/1437.

Název: Cross-bridged cyklamy jako ligandy dvojmocného manganu

Řešitel: Bc. Luděk Míka

Ústav: Katedra anorganické chemie, Přírodovědecká fakulta

Školitel: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

E-mail školitele: modrej@natur.cuni.cz

Abstrakt: V rámci této diplomové práce byly připraveny ligandy se strukturou odvozenou od přemostěného cyklamu. Dále byly nasyntetizovány komplexy dvojmocného manganu s připravenými ligandy. Tyto komplexy byly studovány z hlediska jejich potenciálního využití jako kontrastních látek pro magnetickou rezonanční tomografii, byla měřena jejich relaxivita a redoxní stabilita. Celkem bylo nasyntetizováno 6 ligandů a připraveny 3 komplexy.

Klíčová slova: přemostěný cyklam, fosfonát, fosfinát, pendantní skupiny, mangan

Title: Cross-bridged cyclams as manganese(II) chelators

Autor: Bc. Luděk Míka

Department: Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Science

Supervisor: doc. RNDr. Jan Kotek, Ph.D.

Supervisor's e-mail address: modrej@natur.cuni.cz

Abstract:

The aim of this project was to synthesize a new kind of Mn(II) complexes with ligands derived from cross-bridged cyclam. These complexes may be potentially used as contrast agents in magnetic resonance imaging. Six macrobicyclic ligands with various pendant arm were synthesized, three complexes were successfully prepared. Electrochemical properties of prepared manganese(II) complexes with synthesized ligands were studied using cyclic voltammetry. Relaxivity of prepared complexes was determined by ^1H NMR spectroscopy.

Keywords: cross-bridged cyclam, phosphonate, phosphinate, pendant arms, manganese

Obsah

1	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	9
2	OBEČNÝ ÚVOD	11
3	TEORETICKÁ ČÁST.....	13
	MANGAN	13
	<i>Mangan v přírodě a jeho vlastnosti</i>	13
	<i>Toxicita</i>	14
	<i>Mangan v biomolekulách a v lidském těle</i>	15
	MAGNETICKÁ REZONANČNÍ TOMOGRAFIE (MRI)	16
	<i>NMR efekt</i>	16
	<i>Relaxace</i>	19
	<i>Relaxace v přítomnosti paramagnetik</i>	20
	<i>MRI</i>	22
	<i>Kontrastní látky</i>	23
	<i>Chytré kontrastní látky</i>	26
	<i>Vlastnosti komplexů pro použití jako CA</i>	27
4	MOTIVACE A CÍLE PRÁCE	29
5	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	30
	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE	30
	METODY CHARAKTERIZACE	30
	<i>Elementární analýza</i>	30
	<i>Cyklická voltametrie (CV)</i>	30
	<i>Hmotnostní spektrometrie (MS)</i>	31
	<i>Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)</i>	31
	<i>NMR spektroskopie</i>	31
	<i>Rentgenostrukturní analýza</i>	32
	<i>Stanovení teploty tání</i>	32
	SYNTÉZA SYMETRICKÝCH LIGANDŮ	33
	<i>Perhydro-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren (2)</i>	34
	<i>Perhydro-3a,8a-dimethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium jodid (3)</i>	35
	<i>Perhydro-3a,8a-bis(benzyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (4)</i>	36
	<i>Perhydro-3a,8a-bis(terc-butylkarboxymethyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (5a)</i>	37
	<i>Perhydro-3a,8a-bis(benzylkarboxymethyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (5b)</i>	37
	<i>4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (6)</i>	38

4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (7)	39
1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (8)	40
4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (H ₂ 9)	41
4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (H ₂ 10)	42
4,11-bis(diethoxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (11a)	43
4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2] hexadekan (H ₄ 11)	44
PŘÍPRAVA ASYMETRICKÝCH LIGANDŮ	45
Perhydro-3a-benzyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (12)	46
Perhydro-3a-terc-butylkarboxymethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (13)	46
Perhydro-3a-benzyl-8a-terc-butylkarboxymethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (14)	47
PŘÍPRAVA MN ²⁺ KOMPLEXŮ	49
Chlorid bis(pyridin)manganatý ([Mn(py) ₂ Cl ₂])	49
Chlorid manganatý (MnCl ₂)	49
[Mn(6)Cl ₂]	50
[Mn(7)Cl ₂]	50
[Mn(8)Cl ₂]	51
[Mn(9)]	51
[Mn(10)]	52
MĚŘENÍ REDOXNÍCH VLASTNOSTÍ A STABILIT	52
Cyklická voltametrie v bezvodém prostředí	52
Cyklická voltametrie ve vodném prostředí	53
Stanovení stability komplexů pomocí CV	53
Relaxometrické měření	54
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	57
SYNTEZA SYMETRICKÝCH LIGANDŮ	57
Syntéza 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu (8)	57
Syntéza 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekanu (6)	58
Syntéza 4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekanu (H ₂ 9)	59
Syntéza 4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (H ₂ 10)	60
Syntéza 4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexa- -dekanu (H ₄ 11)	61
SYNTEZA ASYMETRICKÝCH LIGANDŮ	62
SYNTEZA MN ²⁺ KOMPLEXŮ, JEJICH REDOXNÍ VLASTNOSTI A RELAXIVITA	65
Příprava MnCl ₂ a [Mn(py) ₂ Cl ₂]	65
[Mn(6)Cl ₂]	66
[Mn(7)Cl ₂]	67
[Mn(8)Cl ₂]	67

	<i>[Mn(9)]</i>	68
	<i>[Mn(10)]</i>	69
	<i>Měření redoxních vlastností komplexů</i>	70
	<i>Stanovení stability komplexů pomocí cyklické voltametrie</i>	71
	<i>Měření relaxivit komplexů</i>	72
7	ZÁVĚR	74
8	LITERATURA	75
9	PŘÍLOHY	78

1 Seznam použitých zkratek

AcOH	Kyselina octová
AIM-MRI	Activity-Induced Manganese-Enhanced MRI
B.M.	Bohrův magneton
Bn	Benzyl
BnBr	Benzylbromid
CA	Kontrastní látka (Contrast Agent)
CT	Počítačová tomografie (Computed Tomography)
CV	Cyklická voltametrie
dec.	Rozklad (Decomposition)
DMF	Dimethylformamid
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
EBC	Ethylenem přemostěný cyclam (Ethylene Cross-Bridged Cyclam)
EDTA	Kyselina ethylendiamintetraoctová
ekv.	Ekvivalent
ESI	Ionizace elektrosprejem (Electrospray Ionisation)
Et ₂ O	Diethylether
EtOH	Ethanol
IS	Vnitřní koordinační sféra (Inner-Sphere)
MCA	Pufr monochloroctová kyselina/NaOH
MeCN	Acetonitril
MeI	Jodmethan, methyljodid
MEMRI	Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Imaging
MES	Pufr 2-(<i>N</i> -morfolino)ethansulfonová kyselina/NaOH
MS	Hmotnostní spektrometrie
MRI	Magnetická rezonanční tomografie (Magnetic Resonance Imaging)
NMR	Nukleární magnetická rezonance (Nuclear Magnetic Resonance)
OS	Vnější koordinační sféra (Outer-Sphere)
PET	Pozitronová emisní tomografie (Positron emission tomography)

py	Pyridin
RNA	Ribonukleová kyselina
RT	Pokojová teplota (Room Temperature)
RVO	Rotační vakuová odparka
<i>t</i> -Bu	<i>terc</i> -Butyl
<i>t</i> -BuOH	<i>terc</i> -Butanol
SBM	Solomonova-Bloembergenova-Morganova teorie
SHF	Standardní vodíková elektroda (Standard Hydrogen Electrode)
SPECT	Jednofotonová emisní počítačová tomografie (Single-Photon Emission Computed Tomography)
SS	Second-sphere (druhá koordinační sféra)
TMS	Trimethylsilan
UV	Ultrafialové světlo (UltraViolet Light)

2 Obecný úvod

Molekulární zobrazování (Molecular Imaging) je v dnešní době jedním z nejrychleji se rozvíjejících odvětví výzkumu. Pod pojmem molekulární zobrazování je myšleno studování biologických procesů v podmínkách *in vivo*, tedy v živém organismu. Pro zobrazení určitého biologického procesu nebo tkáně se dají použít různé techniky; mezi dnes používané metody patří kromě magnetické rezonanční tomografie (MRI) také počítačová tomografie (CT), jednofotonová emisní počítačová tomografie (SPECT) a pozitronová emisní tomografie (PET).

Při použití magnetické rezonanční tomografie na rozdíl od později jmenovaných metod není nutné vystavovat sledovaný objekt vysokoenergetickému, případně přímo ionizujícímu záření. Další výhodou této metody je dobré prostorové rozlišení (u modifikace micro-MRI až desítky μm) a možnost během jednoho měření získat různé informace. Robustnost této metody se zvyšuje také použitím různých „chytrých“ kontrastních látek (Contrast Agent, CA).¹

Samotná metoda MRI byla poprvé popsána v roce 1973 Paulem Lauterburem². Využívá fenoménu nukleární magnetické rezonance (Nuclear Magnetic Resonance, NMR), tedy interakce vnějšího magnetického pole s jádrem atomu s nenulovým spinem. Působí-li vnější magnetické pole na jádra s nenulovým spinem, dochází k rozštěpení původně degenerovaných energetických hladin. Rozdíl energií těchto hladin odpovídá elektromagnetickému záření v pásmu rádiových vln. Po aplikaci nehomogenního pole na zkoumaný vzorek a následné aplikaci matematických postupů lze vypočítat rozložení intenzity signálu v prostoru. V nejčastějším případě jde o znázornění rozložení množství vody v lidském těle nebo rychlosti její relaxace v různých tkáních.³

Kontrastní látky používané v MRI jsou preparáty, které se před vlastním měřením dodají do organismu. Jde o látky, které působí na rychlost relaxace vody; přítomnost kontrastní látky se pak projeví jako pozitivní nebo negativní kontrast na výsledném snímku. V klinické praxi se kontrastní látky využívají až v 35 % vyšetření.⁴

V dnešní době se jako kontrastní látky používají ve většině případů látky založené na komplexech trojmocného gadolinia. V daleko menší míře se používají paramagnetické nanočástice, nebo kontrastní látky založené na dvojmocném manganu.

Snahou je vytvořit takové kontrastní látky, které by měly co největší účinnost (relaxivitu), aby je bylo možné podávat pacientovi před vyšetřením v co nejmenších dávkách. Další snahou je nahradit v kontrastních látkách poměrně drahé a jedovaté gadolinium za prvek méně jedovatý a levnější.

Tato diplomová práce se zabývá syntézou a zkoumáním kontrastních látek na bázi Mn^{2+} iontu.

3 Teoretická část

Mangan

Mangan v přírodě a jeho vlastnosti^{5,6,7}

Mangan je v přírodě na rozdíl od ostatních prvků 7. skupiny poměrně rozšířeným prvkem. V zemské kůře se nachází asi 1060 ppm manganu⁵ (podle jiných zdrojů 850 ppm⁶ či 910 ppm⁷) a je tak v zemské kůře 12. nejrozšířenějším prvkem. Pokud budeme uvažovat zastoupení pouze *d*-prvků, je v zemské kůře více pouze železa a titanu.

V přírodě se mangan vyskytuje ve více než 300 rozličných minerálech, mezi nejdůležitější patří pyroluzit (MnO_2). Velké množství manganu se nachází na mořském dně, kde se nachází v tzv. manganových kuličkách. Ty obsahují až 30 % manganu. Vznikají koagulací koloidních oxidů manganu, železa a jiných kovů, které se do moře dostanou ze zvětraných hornin.

Přesto, že minerál pyroluzit (MnO_2) byl používán už ve starověkém Egyptě, kovový mangan byl poprvé připraven až v roce 1774 C. W. Scheelem a J. G. Gahnem. Mangan o vysoké čistotě (99,9 %) byl připraven až ve třicátých letech 20. století elektrolýzou roztoku manganatých solí.

Nejvíce vyrobeného manganu se používá v metalurgii; mangan je složkou téměř každé oceli. Velké množství manganu se používá na výrobu tzv. ferromanganu.

Nejběžnějším oxidačním číslem v rozpustných sloučeninách manganu je Mn^{2+} . Tento ion má ve valenční sféře 5 elektronů, které téměř vždy tvoří vysokospinové uspořádání (5 nespárovaných elektronů, celkový spin 5/2). Nízkospinové komplexy tvoří Mn^{2+} pouze s ligandy vytvářejícími velmi silné ligandové pole, jako je anion CN^- .

Běžná koordinační čísla komplexů dvojmocného manganu jsou 4 a 6. Kvůli tomu, že Mn^{2+} tvoří vysokospinové komplexy s 5 nespárovanými elektrony v *d* orbitalu, nedochází ke stabilizaci komplexů ligandovým polem. Proto jsou pro Mn^{2+} poměrně běžné i komplexy s jinou symetrií než oktaedrickou a tedy i koordinační číslo jiné než 6. Například v komplexu $[\text{Mn}(\text{edta})(\text{H}_2\text{O})]^{2-}$, kde edta^{4-} je anion od kyseliny ethylendiamintetraoctové, má mangan koordinační číslo 7 a molekula má tvar jednou očepičkováného trigonálního prizmatu. Protože anion edta^{4-} je hexadentátním ligandem, molekula vody je koordinovaná přímo na kov.

Nulová stabilizace ligandového pole se také podepisuje na kinetické stabilitě manganatých komplexů. Pokud porovnáme konstanty stability obdobných komplexů dvojmocných d -prvků 3. periody, zjistíme, že komplexy Mn^{2+} jsou nejméně stálé. Ve vodném prostředí například manganaté ionty komplexy s ligandy příliš ochotně netvoří, vyskytuje se ve formě hexaaqua iontu. Strukturní jednotku $[Mn(H_2O)_6]^{2+}$ nacházíme také v pevném stavu jeho nejběžnějších sloučenin.

Na druhou stranu konfigurace d^5 zajišťuje manganatým komplexům velkou redoxní stálost.

S elektronovou konfigurací d^5 také souvisí barva a silné paramagnetické vlastnosti vysokospinových komplexů dvojmocného manganu. Vzhledem k tomu, že elektronové přechody mezi nedegenerovanými hladinami v komplexech Mn^{2+} jsou zakázány jak podle Laportova pravidla, tak i spinově, manganaté komplexy jsou buď úplně bezbarvé nebo jen slabě nažloutlé. Vlivem 5 nespárovaných elektronů mají komplexy vysoký magnetický moment blízký teoretické spinové hodnotě 5,92 B.M. (Bohrova magnetonu).

Sloučeniny trojmocného manganu (Mn^{3+}) jsou na rozdíl od sloučenin manganatých intenzivně červené. Vyšší oxidační čísla manganu jsou známy pouze jako anionty, jejich zbarvení je způsobeno charge-transfer pásy. Manganičnany jsou modré, manganany tmavě zelené a manganistany fialové.

Toxicita^{8,9,10}

Hlavním cílem účinku solí manganu v těle je nervová soustava, játra a dýchací soustava. Důvodem toxicity manganatých iontů je jejich prostupnost přes hematoencefalickou bariéru. Ta chrání centrální nervovou soustavu před cizorodými látkami, které k ní nepropustí z krevního řečiště. Manganaté ionty mohou díky své podobnosti s vápníkem touto bariérou procházet do centrální nervové soustavy a tam se vázat na různé buněčné struktury. (Tohoto se využívá ve funkční metodě MEMRI a AIM-MRI). Výsledkem chronické otravy manganem je tzv. manganismus (někdy také označován jako „horečka slévačů“). Otrava manganem se projevuje přecitlivělostí, halucinacemi, ospalostí, slabostí nohou apod. Chronická otrava manganem může vést k rozvoji Parkinsonovy choroby.

Mangan je potenciálním mutagenem, akutní předávkování Mn^{2+} vede k selhání jater.

Tabulka 3.1: Hodnoty toxicit LD_{50} pro $MnCl_2$. Zkratky: *i. p.* – intraperitoneální, *i. v.* – intravenózní, *i. m.* – intramuskulární. Data převzata z literatury⁸.

Druh	Podání	Dávka [mg/kg]	Poznámka
Potkan	<i>perorální</i>	250	-
	<i>i. p.</i>	147	Ospalost, deprese, křeče, záchvaty, zvýšená citlivost
	<i>i. v.</i>	92,6	Ospalost, deprese, křeče, záchvaty, zvýšená citlivost
	<i>i. m.</i>	700	-
Myš	<i>perorální</i>	1031	Třes, křeče, záchvaty, zvýšená citlivost, změny na plicích, zrychlené dýchání
	<i>i. p.</i>	121	-
	<i>i. v.</i>	38	Ospalost, deprese, křeče, záchvaty, zvýšená citlivost, ataxie, zrychlené dýchání
	<i>i. m.</i>	255	-
Pes	<i>i. v.</i>	202	-
Morče	<i>perorální</i>	916	Třes, křeče, zvýšená citlivost, změny na plicích, zrychlené dýchání

Mangan v biomolekulách a v lidském těle^{11,12,13,14,15}

Mangan je ve stopovém množství důležitým prvkem jako kofaktor mnoha enzymů s rozmanitými funkcemi. V těle 70 kg vážícího člověka se nachází asi 20 mg tohoto prvku, doporučená denní dávka manganu je 2 – 5 mg. V těle je mangan rovnoměrně roz distribuován mezi kosti a měkké tkáně. V měkkých tkáních ale jeho zastoupení tak rovnoměrné není. V mozku a nervové tkáni se nachází o několik řádů více manganu než v ostatních tkáních.

Nedostatečný příjem manganu je u lidí vzácný, může ale vést k poruše tvorby inzulinu, kardiovaskulárním onemocněním, narušení metabolismu tuků či arterioskleróze.

Manganatý kation má v enzymech obvykle koordinační číslo 6, popsány jsou ale i komplexy s koordinačním číslem 4 a 5. Koordinační okolí má Mn^{2+} (a v případě oxidoreduktáz i Mn^{3+}) ve všech dosud zkoumaných enzymech hlavně kyslíkové, často bývá kyslík jediným donorem. Druhým prvkem vystupujícím jako donor iontů manganu v enzymech je dusík, častým ligandem je histidin. Kromě postranních řetězců bílkovin bývá na Mn^{2+} často koordinována jedna nebo více fosfátových skupin substrátu, jako např. ATP, a voda. V několika případech bylo také pozorováno, že se v enzymu na Mn^{2+} koordinoval atom síry z cysteinu nebo z methioninu. Ačkoli komplexy manganu s porfyrinem vykazují biologickou aktivitu, zatím nebyl nalezen ani jeden enzym, kde by byl mangan navázán v hemu nebo v korinovém kruhu.

V enzymech se vyskytuje v aktivním místě mangan v podobě mononukleárního, dinukleárního, trinukleárního a tetranukleárního komplexu. Koordinační okolí vybraných enzymů obsahujících mononukleární komplex manganu je uvedeno v tabulce 3.2.

Funkce enzymů obsahujících v aktivním centru mangan je velmi rozmanitá, tyto enzymy najdeme ve všech třídách. Atomy manganu mohou fungovat jako „sklad“ elektronů (Oxygen-evolving komplex), jako centrum pro hydrolýzu (peptidázy, fosfatázy), oxidace (Mn peroxidáza) a pod. Důležitými enzymy je superoxid dismutáza a kataláza – enzymy zajišťující obranu organismů proti superoxidovým radikálům. Ty nejprve superoxid dismutáza převede na peroxid vodíku a ten následně kataláza rozloží na vodu a kyslík.

V organismu mohou manganaté ionty nahrazovat (většinou bez ztráty funkčnosti) ionty hořečnaté a vápenaté. Například se může Mn^{2+} koordinovat na molekuly DNA nebo RNA, kde se koordinují na atomy kyslíku fosfátových skupin a v případě RNA na atomy dusíku bazí (v případě jednošroubovicové molekuly).

Tabulka 3.2 Koordinační okolí Mn v enzymech s mononukleárními komplexy Mn

Název enzymu	k. č. ^a	O	N	S	Aktivní místa ^b	Koordinované aminokyseliny ^c
superoxid dismutáza	6	1	3	0	2	H, H, H, D
Mn peroxidáza <i>E. coli</i>	6	4	0	0	2	D, E, E, hem ^d
3-deoxy-D-arabino-heptulosonát-7-fosfát syntetáza	6	2	1	1	2	E, D, H, C
anorganická pyrofosfatáza	6	3	3	0	0	H, H, H, E, E
oxalát dekarboxyláza	6	1	3	0	2	H, H, H, E
oxalát oxidáza	6	1	3	0	2	H, H, H, E
isopentenyl difosfát izomeráza	6	1	3	0	2	H, H, H, E

^a koordinační číslo; ^b volná koordinační místa pro navázání substrátu; ^c H – histidin, D – aspartát, E – glutamát, C – cystein, ^d hem se váže na Mn karboxylovou skupinou postranního řetězce

Magnetická rezonanční tomografie (MRI)

NMR efekt ^{3,16,17}

Fenomén nukleární magnetické rezonance byl v roce 1946 nezávisle na sobě objeven dvěma skupinami vědců pod vedením F. Blocha a E. M. Purcella (za tento objev jim byla v roce 1952

udělena Nobelova cena za fyziku). Základem této techniky je interakce jádra atomu nesoucího nenulový magnetický moment s vnějším magnetickým polem.

Jednou z charakteristických vlastností jader atomů je spinové kvantové číslo jádra I („jaderný spin“). Spin jádra může nabývat pouze celočíselných nebo poločíselných hodnot. Od jeho hodnoty se pak odvíjí další vlastnost jádra - velikost momentu hybnosti a jeho orientace. Magnetický moment jádra μ je definovaný

$$\mu = \gamma I, \quad (1)$$

kde γ je tzv. gyromagnetický poměr jádra – charakteristická konstanta pro jádro daného prvku (viz tabulka 3.3) – a I je úhlový moment hybnosti jádra.

Pro průmět magnetického momentu jádra do osy z pak platí:

$$\mu_z = \gamma I_z, \quad (2)$$

kde I_z je z -ová složka úhlového momentu hybnosti jádra. Ta se dá zapsat jako

$$I_z = \hbar m_I, \quad (3)$$

kde \hbar je redukovaná Planckova konstanta ($\hbar = h / 2\pi$) a m_I je spinový stav jádra.

Jádro o jaderném spinu I se může nacházet v celkem $2I + 1$ spinových stavech, číslo m_I pak může nabývat diskrétních hodnot

$$m_I = I, I - 1, \dots, -I. \quad (4)$$

Spojením rovnic (2) a (3) pak vznikne vztah

$$\mu_z = \gamma \hbar m_I, \quad (5)$$

ze kterého vyplývá, že magnetický moment jádra může nabývat celkem $2I + 1$ různých orientací vůči ose z . Jádra s $I = 0$ pak budou mít nulový magnetický moment, jádra s $I = 1/2$ budou mít dvě možné orientace spinu, jádra s $I = 1$ budou mít tři možnosti orientace spinu atd.

Z hlediska NMR lze jádra podle hodnoty čísla I rozdělit do 3 kategorií:

i) Jádra s $I = 0$ – jedná se o jádra, která mají sudý počet protonů i neutronů (např. ^{12}C , ^{16}O , ^{32}S). Tato jádra nemají žádný magnetický moment, nebudou tedy interagovat s magnetickým polem. Tato jádra jsou neměřitelná.

ii) Jádra s $I = 1/2$ – jedná se o jádra, která mají nenulový magnetický moment. Tato jádra jsou velmi snadno měřitelná. Patří sem jádra jako ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F nebo ^{31}P .

iii) Jádra s $I > \frac{1}{2}$ – tato jádra mají kromě nenulového magnetického momentu ještě kvadrupólový moment, který je důsledkem nesymetrické distribuce náboje v jádře. Tato jádra jsou špatně měřitelná. Mezi tato jádra patří například ^{14}N a ^{25}Mn .

Dále budeme uvažovat pouze jádra s $I = \frac{1}{2}$ (m_I nabývá hodnot $+\frac{1}{2}$ a $-\frac{1}{2}$). Tato jádra jsou pro NMR (a potažmo i MRI) nejdůležitější.

Tabulka 3.3 Magnetické vlastnosti vybraných izotopů nejdůležitějších organických prvků¹⁸

Jádro	Spin	Přirozené zastoupení (%)	γ ($10^7 \text{ T}^{-1}\text{s}^{-1}$)	NMR frekvence při 11,74 T (MHz)	Citlivost (%)
^1H	1/2	99,99	26,75	500,0	100
^2H	1	0,01	4,11	76,8	0,0001
^3H	1/2	0,00	28,54	533,3	0
^{13}C	1/2	1,07	6,73	125,7	0,02
^{14}N	1	99,63	1,93	36,1	0,1
^{15}N	1/2	0,37	-2,71	50,7	0,0004
^{19}F	1/2	100	25,18	470,4	83
^{31}P	1/2	100	10,84	202,4	6,6

Pokud jsou jádra látky v základním stavu, jsou magnetické momenty jednotlivých jader orientovány v prostoru naprosto náhodně, není žádná síla, která by je nutila nějak se uspořádat. Součet magnetických momentů všech jader bude nulový.

Pokud na jádra bude působit vnější magnetické pole \mathbf{B}_0 , dojde k uspořádání (natočení) jader tak, že jsou jejich magnetické momenty paralelně nebo antiparalelně k vektoru magnetického pole \mathbf{B}_0 .

Touto interakcí dochází ke zrušení degenerace původní energetické hladiny a vzniku nových energetických hladin. Jejich energie popisuje rovnice

$$E_{m_I} = -\mu_z B_z = -\gamma \hbar B_z m_I, \quad (6)$$

kde B_z je intenzita vnějšího magnetického pole \mathbf{B}_0 podél osy z .

Protože uvažujeme pouze případ, kdy hodnota m_I nabývá hodnot $+\frac{1}{2}$ a $-\frac{1}{2}$, dojde ke vzniku dvou hladin. Energetický rozdíl mezi těmito hladinami pak je

$$\Delta E = \gamma B_z \hbar. \quad (7)$$

Ve vnějším magnetickém poli není magnetický moment jádra v klidu, dochází u něj k tzv. precesnímu pohybu. Rychlost tohoto pohybu musí odpovídat tzv. Larmorově frekvenci ν_L

$$\nu_L = \frac{\gamma B_z}{2\pi}. \quad (8)$$

Ze vztahu (8) je zřejmé, že frekvence tohoto pohybu je přímo úměrná intenzitě magnetického pole, ze vztahu (7) je vidět, že energetické hladiny se s rostoucím magnetickým polem oddalují. Vzhledem k faktu, že se populace jednotlivých stavů musí řídit Boltzmanovým rozdělením, roste se zvyšujícím se magnetickým polem rozdíl v populovanosti jednotlivých hladin a tím také roste citlivost daného přístroje. V NMR spektroskopii bývá zvykem uvádět intenzitu magnetického pole přístroje jako Larmorovu frekvenci protonu (jádra ^1H) v jednotkách MHz.

Z předchozí rovnice (8) je vidět, že Larmorova frekvence závisí nejen na síle magnetického pole, ale také na gyromagnetickém poměru daného jádra. Z běžných jader má nejvyšší gyromagnetický poměr jádro ^1H , preceduje při nejvyšších frekvencích a je tedy nejlépe měřitelné, nejvíce citlivé. Citlivost jader také závisí na jejich přirozeném výskytu. Např. jádro ^{13}C je poměrně špatně měřitelné, neboť jeho gyromagnetický poměr je v porovnání s ^1H pouze čtvrtinový a navíc je jeho přirozený výskyt pouze asi 1 %. Výsledná citlivost jádra tedy dosahuje 0,02 % citlivosti protonu.

Relaxace^{3,16,17}

Při provádění NMR experimentu se postupuje tak, že se soubor jader vyvede pomocí krátkého radiofrekvenčního pulzu z rovnováhy a následně se pozoruje odezva celého systému na detekční cívce. Signál, který je následně detekován, odpovídá opětovnému přechodu systému jader z excitovaného do základního stavu.

Pro popis velkého souboru jader je nepraktické operovat s magnetickými momenty jednotlivých jader. Zavádí se tedy vektor magnetizace \mathbf{M} , což je výslednice všech magnetických momentů jader ve vzorku. V případě, že vzorek je mimo magnetické pole, je počet jader s $m_I = +1/2$ stejný, jako počet jader s $m_I = -1/2$, výsledná magnetizace bude tedy nulová. V případě, že se ale soubor jader bude nacházet ve vnějším magnetickém poli, jeden ze stavů bude energeticky výhodnější, tedy i populovanější, a výsledná magnetizace bude mít směr osy z.

Relaxace je návrat spinového systému zpět do rovnováhy poté, co byl z rovnováhy vyveden.

Navracení systému do rovnováhy je způsobováno dvěma různými mechanizmy:

i) Prvním mechanizmem relaxace označovaným jako podélná (longitudální) relaxace. Tato je způsobena interakcí jednotlivých jader s fluktuujícím magnetickým polem generovaným tepelným pohybem okolních molekul. Postupně dochází k nárůstu složky magnetizace v ose z (v rovnováze je složka M_z maximální). Rychlost této relaxace charakterizuje spin-mřížkový relaxační čas T_1 , jeho hodnota bývá řádově několik sekund.

ii) Druhý mechanizmus relaxace je označován jako příčná (transverzální) relaxace. Zatímco v základním stavu je vektor magnetizace rovnoběžný s osou z a jeho průmět do roviny xy je nulový, pro jádro mimo rovnováhu je magnetizace v rovině xy (M_{xy}) nenulová. V důsledku generování mikroskopických magnetických polí jádru samotnými dochází k tomu, že jednotlivá jádra precedují při různých Larmorových frekvencích až dojde k vyrušení celkové magnetizace v rovině xy . Rychlostní konstanta pro transversální relaxaci (T_2) se označuje jako spin-spinový relaxační čas. Relaxační čas T_2 je menší nebo roven relaxačnímu času T_1 .

Obecně platí, že velké rigidní molekuly mají kratší relaxační čas T_2 než molekuly malé a pohyblivé.

Relaxace v přítomnosti paramagnetik^{4,19}

Přítomnost paramagnetického centra v blízkosti měřených molekul se projeví na snížení jejich relaxačních časů. Pro zředěné roztoky látek platí Solomonova-Bloembergenova-Morganova teorie (SBM), která předpokládá, že pozorovaný snížený relaxační čas ($T_{1,obs}$, $T_{2,obs}$) je složen z příspěvku relaxačního času bez přidavku paramagnetické látky (diamagnetický příspěvek, $T_{1,d}$ a $T_{2,d}$) a příspěvku paramagnetika (paramagnetický příspěvek, $T_{1,p}$ a $T_{2,p}$). Pro pozorované hodnoty zkrácených relaxačních časů $T_{1,obs}$ a $T_{2,obs}$ platí

$$\frac{1}{T_{1,obs}} = \frac{1}{T_{1,p}} + \frac{1}{T_{1,d}} \quad (9)$$

$$\frac{1}{T_{2,obs}} = \frac{1}{T_{2,p}} + \frac{1}{T_{2,d}}. \quad (10)$$

SBM teorie také zavádí veličinu nazvanou relaxační rychlost R jako reciprokou hodnotu relaxačního času T . Rovnice (9) a (10) mohou být pak přepsány do tvaru

$$R_{1,obs} = R_{1,p} + R_{1,d} \quad (11)$$

$$R_{2,\text{obs}} = R_{2,\text{p}} + R_{2,\text{d}}. \quad (12)$$

Dalším předpokladem SBM teorie je, že paramagnetický člen relaxační rychlosti je přímo úměrný koncentraci paramagnetické látky [M]

$$R_{1,\text{obs}} = r_1 [\text{M}] + R_{1,\text{d}} \quad (13)$$

$$R_{2,\text{obs}} = r_2 [\text{M}] + R_{2,\text{d}}. \quad (14)$$

Konstanty r_1 a r_2 v předchozích vztazích se nazývají relaxivity a charakterizují schopnost paramagnetické látky snižovat relaxační rychlost molekul ve svém okolí. Jednotkou relaxivity je $\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$. Pro použití v MRI jsou významné relaxivity protonů v molekule vody, r_1 a r_2 se pak označují jako protonové relaxivity.

K relaxaci protonů v blízkosti paramagnetika dochází na základě interakcí dipólů mezi jadernými spiny měřené látky a fluktuujícím magnetickým polem nespárovaných elektronů paramagnetika. Magnetické pole paramagnetika ale rychle klesá se vzdáleností od jeho centra, pro co nejvyšší účinnost je nutné, aby molekuly vody byly co nejblíže k paramagnetickému centru.

K celkové relaxivitě paramagnetika přispívají celkem 3 typy interakcí mezi paramagnetikem a okolními molekulami.

Jako příspěvek vnitřní koordinační sféry (IS, Inner-Sphere) se označuje příspěvek molekul přímo navázaných na centrální paramagnetický atom (většinou se jedná o jednu nebo dvě molekuly vody). Příspěvek vnější koordinační sféry (OS, Outer-Sphere) zajišťují molekuly, které jsou v blízkosti paramagnetického centra, ale nejsou na něj přímo koordinovány. Těchto molekul je více než molekul ve vnitřní koordinační sféře, jejich vzdálenost od paramagnetického centra je ale větší. Doba, po kterou se molekuly vody nacházejí v přítomnosti paramagnetického centra, je řízena difúzí. Příspěvek vnější koordinační sféry je srovnatelný s příspěvkem vnitřní koordinační sféry. Jako druhá koordinační sféra (SS, Second-Sphere) se označují ty molekuly, které nejsou přímo vázány na paramagnetické centrum, ale díky jiným interakcím, jako je například vodíková vazba, setrvávají u paramagnetického centra déle, než by bylo způsobeno prostou difúzí.

Celková relaxivita je pak součtem všech těchto příspěvků

$$r_1 = r_1^{\text{IS}} + r_1^{\text{OS}} + r_1^{\text{SS}} \quad (15)$$

$$r_2 = r_2^{\text{IS}} + r_2^{\text{OS}} + r_2^{\text{SS}}. \quad (16)$$

MRI^{2,3,4}

Magnetická rezonanční tomografie (též zobrazování magnetickou rezonancí, MRI, Magnetic Resonance Imaging) je metoda využívající NMR efektu používaná v lékařství k zobrazování rozložení vody v objektech a tím pádem i jejich vnitřní strukturu. Tato metoda byla poprvé popsána v roce 1973 Paulem Lauterburem (za tento objev mu byla v roce 2003 udělena Nobelova cena za fyziologii a medicínu).

Pokud je do homogenního magnetického pole umístěn vzorek (zkumavka s vodou, lidské tělo) bude výsledkem měření jeden jediný signál vody. Pokud bude ale magnetické pole nehomogenní, bude intenzita magnetického pole v různých místech měřeného objektu různá a také rezonanční frekvence vodíkových atomů v molekule vody bude rozdílná. Změřením intenzity signálu vody v různých místech prostoru a následnou analýzou naměřených dat pomocí počítače je možné získat prostorový model rozložení vody v měřeném objektu nebo jen řezy objektem.

V lidském těle není voda v tkáních zastoupena rovnoměrně, různé tkáně budou poskytovat různě intenzivní signál, jednotlivé orgány budou na výsledném modelu jasně ohraničené. Kromě množství vody v dané tkáni se na intenzitě signálu podílí také velikost relaxačních časů T_1 a T_2 . Čím je relaxační čas kratší, tím víc jader dokáže během měření zrelaxovat a signál bude intenzivnější. Na velikost relaxačních časů mají vliv látky rozpuštěné ve vodě, které nějakým způsobem působí na molekuly vody. Různé relaxační časy jsou například patrné mezi zdravou a patologickou tkání.

Běžný MRI skener může zjišťovat kromě rozložení vody ve tkáních i rozložení relaxačních časů vody v prostoru. Snímky, které zobrazují velikosti $1/T_1$ nebo $1/T_2$ se pak označují jako T_1 vážené, nebo T_2 vážené (T_{1w} , T_{2w}). Na těchto snímcích je vidět různé biochemické podmínky, jako je pH, teplota a koncentrace solí.

Kromě „běžného“ MRI lze tuto techniku také modifikovat pro pozorování určitých struktur a pochodů v organismu. Tyto metody se pak nazývají jako funkční MRI (fMRI). Pomocí

těchto technik lze například sledovat v reálném čase průtok krve cévami či funkce lidského mozku.

Pro zlepšení kontrastu na MRI snímcích a zvýraznění určitých oblastí v organismu se používají tzv. kontrastní látky (CA, Contrast Agent).

Kontrastní látky^{9,20,21}

Kontrastní látky slouží ke zvyšování kontrastu určitých struktur při magnetické rezonanční tomografii. Funkcí kontrastních látek je zvyšování relaxační rychlosti protonů ve vodě v tkáních v okolí molekuly kontrastní látky. Kontrastní látky fungují jako katalyzátory relaxace protonů. Toto je způsobeno paramagnetickými vlastnostmi této látky, látka působí na oba relaxační časy. Podle vlivu na relaxační časy dělíme kontrastní látky na dvě skupiny:

- i) T_1 -kontrastní látky jsou takové, které působí více na hodnotu T_1 než na hodnotu T_2 ,
- ii) T_2 -kontrastní látky jsou takové, které působí na hodnotu T_2 více než na hodnotu T_1 .

Pravidlem je že u T_1 -kontrastních látek by mělo být T_1 méně než desetkrát menší než T_2 a u T_2 -kontrastních látek by mělo být T_2 asi 50krát větší než T_1 .

T_1 -kontrastní látky^{4,9,10,19}

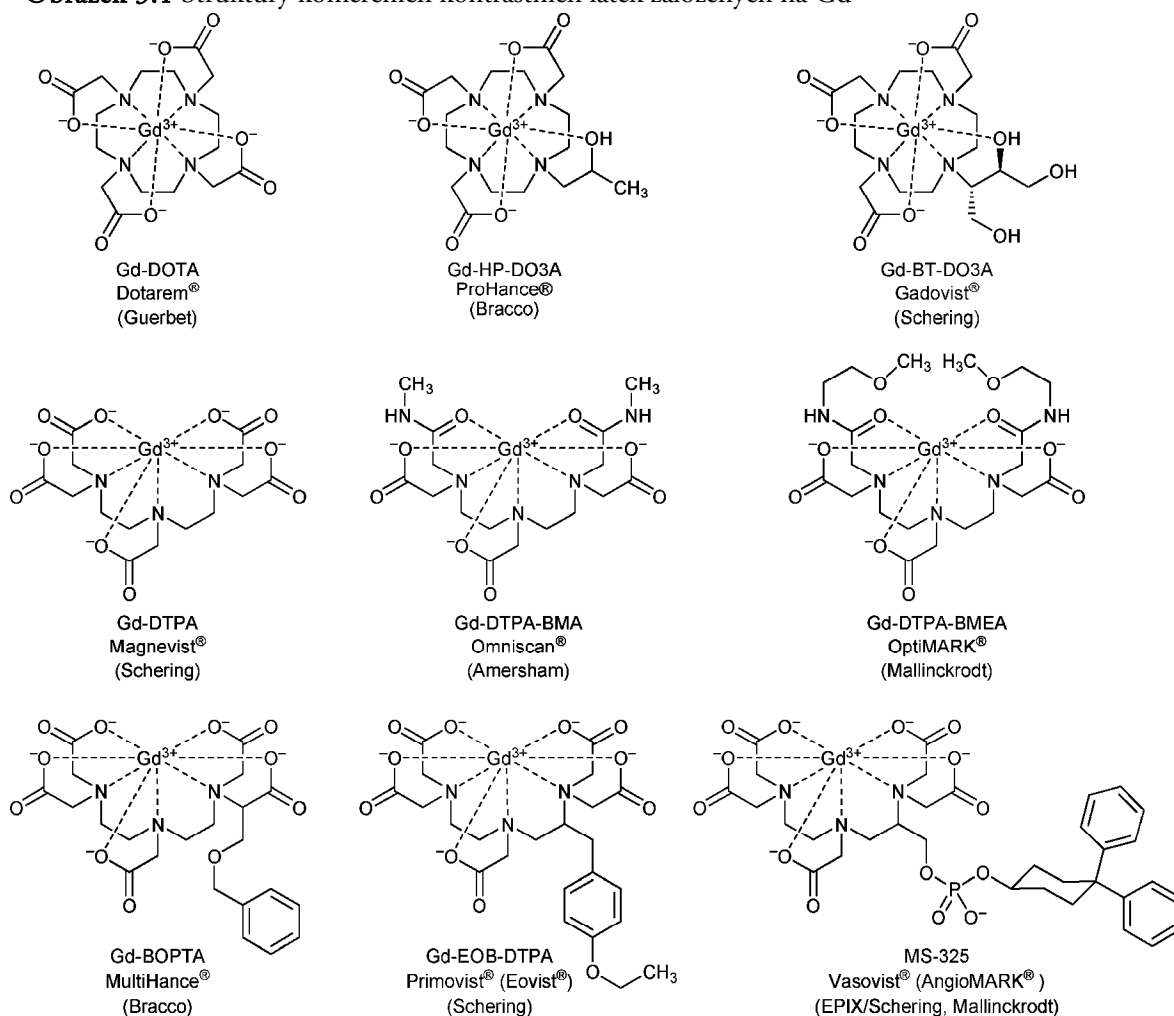
Funkce těchto kontrastních látek je založena na interakci paramagnetického iontu kontrastní látky s molekulou vody v její blízkosti. Nejčastějším používaným paramagnetickým iontem je trojmocné gadolinium. Důvodem jeho použití je velký magnetický moment gadolinitého iontu (7,9 B.M.) způsobený 7 nespárovanými elektrony. Další jeho výhodou je zcela symetrický elektronový stav ($^8S_{7/2}$). Nevýhodou gadolinitého iontu je toxicita jeho volné formy – aqua komplexu. Z tohoto důvodu jsou T_1 -kontrastní látky založené na gadolinu komplexy Gd^{3+} s vícedentátními organickými ligandy. Tyto komplexy jsou dostatečně stálé, aby se v lidském organismu nerozkládaly a neprojevovaly se toxické vlastnosti gadolinia.

Vůbec první kontrastní látkou schválenou pro klinické použití byl komplex Gd^{3+} s DTPA (diethylenetriaminpentaoctová kyselina). Dnes se odvozují dvě řady gadolinitých komplexů používaných jako kontrastní látky v klinické praxi. Jednou jsou komplexy s lineárními ligandy odvozených od DTPA, druhou skupinou jsou komplexy s makrocyclickými ligandy odvozenými od DOTA (1,4,7,10-tetraazadodekantetraoctová kyselina). Struktury

kontrastních látek na bázi gadolinitého iontu schválené pro použití v klinické praxi jsou uvedeny na obrázku 3.1.

Kromě kontrastních látek obsahujících jako paramagnetické centrum gadolinium jsou pro klinické použití schváleny ještě 2 látky obsahující Mn^{2+} a jedna látka obsahující Fe^{3+} . Oba dva ionty mají velký magnetický moment způsobený 5 nespárovanými elektrony. Stejně jako Gd^{3+} mají i tyto ionty symetrický elektronový stav, ale zdaleka nejsou tak účinné.

Obrázek 3.1 Struktury komerčních kontrastních látek založených na Gd^{3+}

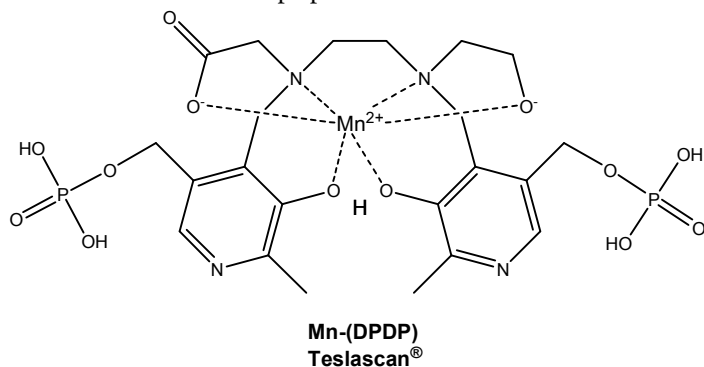


Jednou z látek obsahujících mangan je přípravek Teslascan®, což je komplex manganatého iontu s ligandem DPDP (*N,N'*-dipyridoxylethylendiamin-*N,N'*diacetát-5,5'-bis(fosfát); viz obrázek 3.2). Tato kontrastní látka se podává intravenózně a používá se k zobrazení činnosti jater. Tato látka ale není kontrastní látkou jako celek, účinnou částicí je volný manganatý iont vznikající rozkladem komplexu v játrech.

Druhé dvě zmiňované látky jsou podobné svým účinkem, jedná se o kontrastní látky podávané perorálně při vyšetření gastrointestinálního traktu pomocí MRI. Jedním je přípravek LumenHance[®], jehož účinnou látkou je MnCl_2 , podává se ve formě nápoje s jahodovou příchutí.

Druhým je přípravek FerriSeltz[®] jehož účinnou složkou je citronan amonno-železitý. Přípravek se pacientům podává po rozpuštění ve vodě ve formě nápoje s bublinkami a grepovou příchutí.

Obrázek 3.2 Struktura přípravku Teslascan[®]



T_2 -kontrastní látky^{4,22}

Tyto kontrastní látky se označují jako superparamagnetické. Jejich přítomnost zkracuje transversální relaxační čas natolik, že se na MRI snímku objeví přítomnost těchto kontrastních látek jako tmavá skvrna. T_2 -kontrastní látky svou přítomností indukují negativní kontrast. Vývojově se jedná o kontrastní látky mladší, v klinické praxi se využívají jen okrajově (asi jen v 10 % vyšetření s CA).

Ve většině případů se jedná o nanočástice magnetických oxidů železa (magnetit Fe_3O_4 , maghemit $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Z důvodu lepší biokompatibility jsou tyto nanočástice obaleny vrstvou dextranu, polyethylenglykolu apod. Podle velikosti a vlastností lze tyto látky rozdělit do tří skupin:

- i) MPIO (Micrometer-Sized Paramagnetic Iron Oxide) – velikost částic je v řádu mikrometrů;
- ii) SPIO (SuperParamagnetic Iron Oxide) – částice složené z několika magnetických jader o velikosti 4–5 nm. Velikost celé částice je ve stovkách nanometrů;

iii) USPIO (UltraSmall SuperParamagnetic Iron Oxide) – částice o velikosti do 50 nm obsahující jediné magnetické jádro o velikosti 4–5 nm.

Větší obliba T_1 -kontrastních látek je dána lépe pozorovatelným kontrastem na snímcích.

Manganese-Enhanced MRI – MEMRI^{9,10,12,20,23}

Jednou z T_1 -kontrastních látek se speciálním využitím je chlorid manganatý, experimenty se pak nazývají Manganese-Enhanced MRI (MEMRI). Při těchto experimentech se využívá toho, že manganatý ion je podobný (jak svou velikostí, tak svou tvrdostí podle teorie měkkých a tvrdých kyselin a zásad) iontu vápenatému. Pomocí MEMRI lze studovat příjem vápníku jednotlivými buňkami nebo distribuce aplikovaných léčiv tkáněmi.

Další metodou je Activity-Induced Manganese-Enhanced MRI (AIM-MRI). Zde se využívá schopnosti manganatého iontu prostupovat hematoencefalickou bariéru a vstupovat do mozku. Zde manganatý ion využívá vápníkové kanály v excitovatelných buňkách a hromadí se v oblastech velké aktivity. Pomocí tohoto lze studovat zapojení jednotlivých částí mozku při různých činnostech. Manganatý ion vystupuje jako neinvazivní ukazatel mozkových drah.

Bohužel metody využívající $MnCl_2$ z důvodu poměrně velké toxicity manganatého iontu nejsou použitelné na lidských pacientech. Tyto metody se zatím provádějí pouze na zvířatech, ale i tak přinesly nové informace do studia funkce mozku. V posledních letech se intenzivně pracuje na zlepšení těchto metod, aby byly použitelné i v klinické praxi. Jde především o vývoj lepších pulzních technik, které by umožňovaly použití menšího množství kontrastní látky, aby se potlačila její toxicita.

Chytré kontrastní látky²¹

Speciální úpravou kontrastních látek lze vytvořit látky, které mohou indikovat biochemické prostředí. Relaxivita těchto látek pak závisí na určité proměnné, přičemž rozdíly v relaxivitě jsou natolik velké, že jsou na výsledném snímku patrné rozdíly. Tímto je možno zviditelnit patologické procesy v tkáních.

Lze vytvořit látky citlivé na teplotu, pH, iontovou sílu, parciální tlak kyslíku nebo koncentraci enzymů. Podobně lze úpravou skeletu docílit selektivního navazování kontrastní látky např. na rakovinnou tkáň, kosti či jiné tkáně nebo určité antigeny.

Vlastnosti komplexů pro použití jako CA^{24,25}

Aby byl komplex vhodný pro použití jako kontrastní látka, musí splňovat několik kritérií. Základním požadavkem na kontrastní látku je, že by měla obsahovat paramagnetické centrum. Je nutné, aby paramagnetickým centrem byl ion s co možná největším magnetickým momentem, tedy s co největším množstvím nespárovaných elektronů. Dále je vhodné, aby centrální ion měl symetrický elektronový stav. Těmto podmínkám nejlépe vyhovují ionty Gd^{3+} , Mn^{2+} a Fe^{3+} . Ostatní prvky s 5 nespárovanými *d* elektrony nebo 7 nespárovanými *f* elektrony nepřípadají v úvahu z důvodu jejich redoxní nestálosti nebo radioaktivity.

Dalším požadavkem na kontrastní látku je, aby byly co nejméně toxické a aby se dobře vylučovaly z těla. Z iontů zmiňovaných v předchozím odstavci je nejvíce toxické trojmocné gadolinium. Dvojmocný mangan je jedovatý o něco méně, zdaleka nejméně je toxické trojmocné železo. Toxicita volných iontů (iontů ve formě svých aqua komplexů) se dá snížit jejich zakomplexováním, s okolím pak neinteraguje kovový ion, ale atomy ligandů.

Je důležité, aby komplexy byly co nejstabilnější, aby nedocházelo k rozpadu komplexů a uvolňování kovových iontů. Tato stabilita musí být jak z kinetického, tak i z termodynamického hlediska. Rozklad komplexu může nastávat z důvodu jeho hydrolýzy – vlivem v okolí přítomných molekul vody – nebo transmetalací, kdy v lidském těle je poměrně velká koncentrace vápenatých a zinečnatých iontů.

Stabilitu komplexů lze řídit volbou vhodného ligandu. Ligandy, které mají více koordinačních míst (polydentátní ligandy) tvoří stabilnější komplexy než komplexy skládající se z více jednovazných ligandů. Tento efekt se stupňuje s množstvím vazebných míst ligandu. Dalšího zvýšení stability je možné dosáhnout použitím cyklických, případně polycyklických ligandů.

Ideálním ligandem z hlediska stability by tedy byl rigidní makrocyclický ligand kompletně obklopující centrální paramagnetický ion. U těchto komplexů je ale snižena možnost interakce centrálního atomu s molekulami vody v okolí. K rychlosti relaxace molekul vody nejvíce přispívá vnitřní koordinační sféra (IS), tedy ty molekuly vody, které jsou přímo koordinovány na paramagnetický ion. Pokud má centrální atom všechna koordinační místa vysycená vazbami k ligandu, není tato interakce možná. Tyto komplexy pak nebudou příliš účinné.

Zvyšováním počtu molekul vody navázaných na centrální atom (hydratačního čísla, q) ale klesá stabilita komplexu. Vhodné jsou tedy takové ligandy, které ponechávají jedno koordinační místo volné pro koordinaci molekuly vody.

V případě komplexů dvojmocného manganu do hry ještě vstupuje stabilita redoxní, protože ligandy působí na změnu redoxního potenciálu centrálního atomu. V okamžiku, kdy se mangan v komplexu zoxiduje na trojmocný ion, ztrácí část své účinnosti coby kontrastní látky.

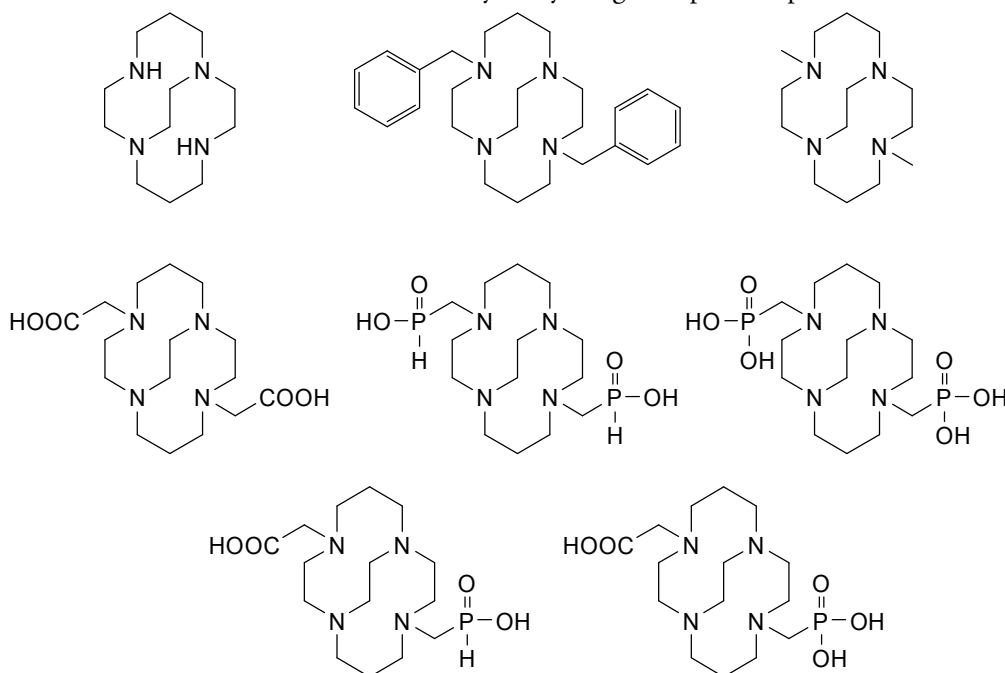
V neposlední řadě je důležitá cena připraveného preparátu. Cena MnCl_2 je asi 60× nižší než cena GdCl_3 .

Komplexy d prvků s ligandy se strukturou odvozenou od cross-bridged cyklamu jsou známé svými vysokými konstantami stabilit. Jedná se o chelatující tetra- až hexadentátní ligandy, u kterých je stabilita komplexů zvyšována jak chelátovým tak makrocyclickým efektem. Navíc velikost kavity, kterou cross-bridged cyklam vytváří, odpovídá velikosti dvojmocného manganu.

4 Motivace a cíle práce

Cílem této diplomové práce bylo připravit řadu makrobicyklických ligandů strukturně odvozených od cross-bridged cyklamů s různými pendantními skupinami navázanými na sekundárních aminoskupinách (viz schéma 4.1).

Schéma 4.1 Navržené struktura makrobicyklických ligandů pro komplexaci Mn^{2+} iontu



Tyto sloučeniny by měly být dobrými ligandy pro komplexaci manganatých iontů, díky svojí struktuře a velkému množství atomů schopných se koordinovat na centrální atom. Od komplexů připravených ligandů s Mn^{2+} se očekává vysoká termodynamická stabilita a kinetická inertnost.

Manganatý ion byl vybrán jako vhodná náhrada iontu gadolinitého z důvodu své elektronové konfigurace a velkého magnetického momentu. U těchto komplexů se očekává použitelnost jako kontrastních látek v magnetické rezonanční tomografii.

U nasyntetizovaných ligandů byla pomocí cyklické voltametrie studována jejich redoxní stabilita a částečně také jejich stabilita ve vodném prostředí. Pomocí nukleární magnetické rezonance byla u naměřených komplexů stanovena jejich relaxivita, byla také studována změna relaxivity komplexů v čase vlivem jejich disociace, případně oxidace.

5 Experimentální část

Použité chemikálie

Chemikálie použité na přípravu látek byly v komerčně dostupné kvalitě, a pokud není řečeno jinak, nebyly dále upravovány. Rozpouštědla označená jako suchá byla vysušena postupy popsány v literatuře²⁶. Rozpouštědla označená jako bezkyslíkatá byla odkysličena varem pod zpětným chladičem s CaH_2 a následnou destilací v atmosféře argonu. Pro přípravu komplexů a cyklickou voltametrii byl použit suchý komerční acetonitril. Použitý cyklam byl produktem praktik z anorganické chemie na PŘF UK. Jeho čistota byla kontrolována pomocí NMR.

Metody charakterizace

Elementární analýza

Elementární analýza byla provedena na automatickém analyzátoru Perkin Elmer 2400 na Ústavu makromolekulární chemie AV ČR v Praze. Hmotnostní procenta jsou uváděna s přesností na dvě desetinná místa.

Cyklická voltametrie (CV)

Měření cyklické voltametrie bylo prováděno na potenciostatu AUTOLAB PGSTAT101. Všechna měření byla prováděna pod ochrannou atmosférou dusíku.

Měření ve vodném prostředí bylo prováděno v tříelektrodovém uspořádání s platinovou pomocnou elektrodou, argentchloridovou referentní elektrodou (+207 mV vůči standardní vodíkové elektrodě, SHE) a glassy carbon diskovou pracovní elektrodou. Pomocným elektrolytem byl 0,1M roztok KCl v destilované vodě. Před vlastním měřením byl roztok v elektrochemické cele probubláván dusíkem do vymizení signálu kyslíku na zkušebním voltamogramu. Dusík byl před vstupem do elektrochemické cely probublán 0,1M roztokem KCl v destilované vodě, aby nedocházelo během měření k odpařování měřeného roztoku.

Měření v bezvodém prostředí bylo prováděno v tříelektrodovém uspořádání s platinovou pomocnou elektrodou, glassy carbon diskovou pracovní elektrodou a argentchloridovou double-junction referentní elektrodou. Elektrolytem referentní elektrody byl 2M roztok LiCl v bezvodém lihu a můstkovým elektrolytem nasycený roztok NBu_4ClO_4 v bezvodém

ethylenglykolu. Pomocným elektrolytem byl 0,1M roztok NBu_4ClO_4 v suchém acetonitrilu komerčně dostupném od firmy Sigma-Aldrich. Před vlastním měřením byl roztok v elektrochemické cele probubláván dusíkem do vymizení signálu kyslíku na zkušebním voltamogramu. Signály byly standardizovány na signál ferrocen/ferrocenium (0,400 V oproti SHE)^{27,28}, který byl do elektrochemické cely přidán po měření.

Zpracování naměřených dat bylo prováděno v programu NOVA 1.10 dodávaném s přístrojem.

Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektra byla naměřena na hmotnostním spektrometru Bruker ESQUIRE 3000 ES-iontrap s ionizací elektrosprejem (ESI) v pozitivním a negativním módu (PřF UK). Vzorby byly rozpuštěny v MeOH nebo H_2O , naředěny v mobilní fázi (MeOH) a pomocí stříkačky Hamilton o objemu 25 μl byly dávkovány rychlostí 250 $\mu\text{l min}^{-1}$.

Uvedeny jsou pouze signály, které se podařilo jednoznačně identifikovat, hodnoty jsou uvedeny s přesností na jedno desetinné místo.

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

Chromatografie byla prováděna na destičkách TLC aluminium sheets silica gel 60 F_{254} (Merck) s nanesenou vrstvou širokoporézního silikagelu. Příslušné mobilní fáze a detekční metody jsou uvedeny u jednotlivých látek.

Hodnoty R_f jsou uvedeny s přesností na jedno desetinné místo.

Detekční činidla:

Ninhydrin – detekce probíhala posprejováním destičky 0,5% roztokem ninhydrinu v EtOH a následným ohřevem destičky nad horkovzdušnou pistolí.

Zhášení fluorescence barviva naneseného na silikagelu – detekce probíhala osvětlením UV zářením o vlnové délce 254 nm.

NMR spektroskopie

Měření spekter bylo prováděno na přístrojích VNMR300, Varian^{UNITY}INOVA 400 a Bruker Avance (III) 600. Hodnoty chemického posunu δ jsou uváděny v jednotkách ppm s přesností na dvě desetinná místa. Interakční konstanty J jsou uváděny v jednotkách Hz

s přesností na jedno desetinné místo. U každé látky je vždy uvedeno rozpouštědlo a rezonanční frekvence.

Chemické posuny byly referencovány na interní standardy²⁹: *t*-BuOH v D₂O (δ_{H} = 1,24; δ_{C} = 30,29 a 70,36), TMS v CDCl₃ (δ_{H} = 0,00; δ_{C} = 0,00) nebo signály rozpouštědla: CHCl₃ (δ_{H} = 7,26), CDCl₃ (δ_{C} = 77,16). Při měření ³¹P NMR spekter byl jako reference použit externí standard 85% H₃PO₄ v D₂O (δ_{P} = 0,00).

Všechna ¹³C spektra byla měřena s decouplingem vodíkových jader. Měření byla prováděna při 25 °C.

Pro popis spekter byly použity následující zkratky: s – singlet, d – dublet, t – triplet, q – kvartet, m – multiplet, bs – broad singlet (široký singlet), AB – AB systém.

Deuterovaná rozpouštědla použitá při měření: D₂O (99,8 % D, Armar Chemicals, CDCl₃ (99,8 % D, Sigma-Aldrich).

Rentgenostrukturní analýza

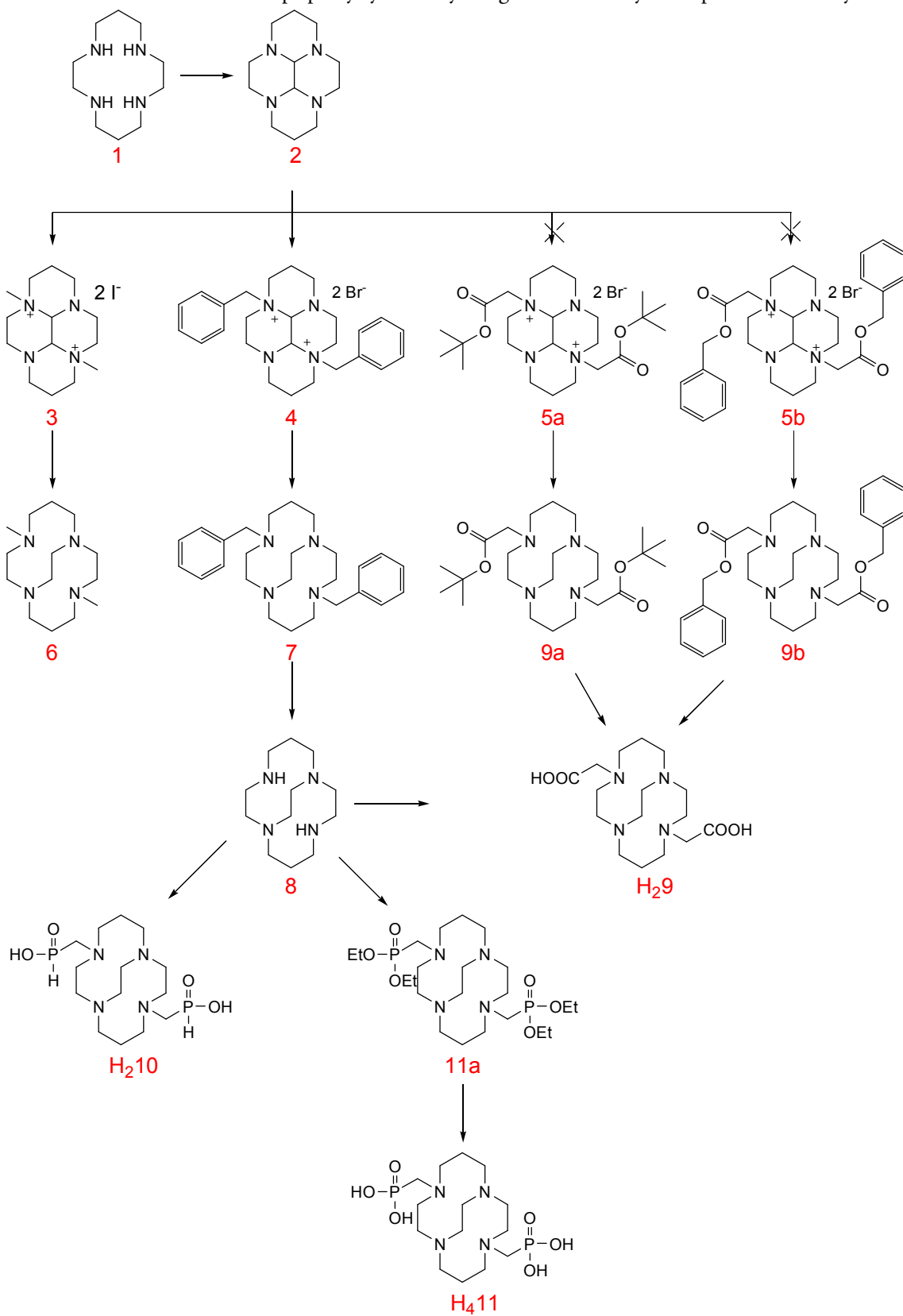
Struktury látek byly získány měřením vypěstovaných monokrystalů na difraktometru APEXII CCD při 150(1) K, jako zdrojové záření byla použita linie Mo-*K*α (λ = 0,71073 Å). Data byla zpracována v obslužném programovém balíku BRUKER APEX2, řešení struktury bylo provedeno v programu BRUKER SAINT. Vypřesňování struktury bylo provedeno programem SHELXL97³⁰, vizualizace struktury byla provedena v programu PLATON³¹.

Stanovení teploty tání

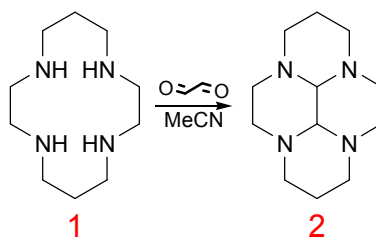
Stanovování teploty tání bylo prováděno na bodotávku Büchi B-540. Vzorek látky byl upěchován ve skleněné kapiláře a vložen do stroje. Bod tání byl stanovován vizuálně. Každé měření bylo opakováno třikrát.

Syntéza symetrických ligandů

Schéma 5.1: navržené schéma přípravy symetrických ligandů odvozených od přemostěného cyklu



Perhydro-3a,5a,8a,10a-tetraazapyren (2)



Syntéza byla provedena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře^{32,33}.

V 2l kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo suspendováno 20,0 g (100 mmol) cyklamu (1) v 1l acetonitrilu. Suspenze byla ponořena do olejové lázně vyhřáté na 60 °C a intenzivně míchána. Do 150ml kádinky bylo naváženo 9,2 g (132 mmol, 1,3 ekv.) dihydrátu trimeru glyoxalu, bylo přidáno 100 ml vody. Směs byla zahřívána, dokud nedošlo k vyčerení roztoku.

Horký roztok glyoxalu byl během 1 hodiny přikapán k suspenzi cyklamu v acetonitrilu. Po přidání veškerého glyoxalu byla směs v baňce míchána ještě 1 hodinu a ponechána vychladnout do druhého dne. Roztok byl následně odpařen dosucha na RVO. K odparku bylo přidáno asi 100 ml toluenu a směs byla opět odpařena na RVO dosucha.

Vzniklá hnědooranžová hmota byla za horka (var hexanu) extrahována 4× 100 ml hexanu. Hexanové frakce byly spojeny, odpařeny do sucha na RVO a ponechány krystalizovat v evakuovaném exsikátoru.

Bylo získáno celkem 17,1 g, tj. 77 % produktu ve formě bezbarvých krystalů.

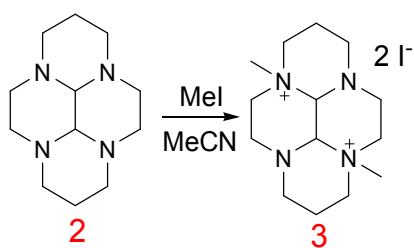
Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ: 1,35 (d, 2H, ³J_{H-H} = 13,1); 1,98–2,33 (m, 6H); 2,39–2,43 (d, 2H, ³J_{H-H} = 11,4); 2,71–2,75 (d, 2H, ³J_{H-H} = 11,8); 2,88–2,95 (m, 6H); 3,10 (s, 2H); 3,31–3,39 (t, 2H, ³J_{H-H} = 11,8)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ: 19,4; 44,3; 51,8; 53,6; 55,6; 76,2

MS (ESI) (+): 222,5 (M+H)⁺, vypočteno 222,3

Perhydro-3a,8a-dimethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium jodid (3)



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁴.

Do 250ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 3,0 g (14 mmol) látky **2**. Navážka byla rozpuštěna ve 100 ml suchého acetonitrilu. Za intenzivního míchání bylo k roztoku přilito 5 ml (11,5 g, 80,3 mmol, 6 ekv.) methyljodidu (MeI). Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a ponechána míchat při RT 3 dny. Za tuto dobu došlo v baňce k vysrážení bílé sraženiny. Obsah baňky byl následně zahuštěn na RVO asi na poloviční objem. Bílá sraženina byla odsáta na fritě, promyta asi 30 ml acetonitrilu a ponechána sušit prosáváním vzduchem.

Čištění látky bylo provedeno rozpuštěním surového produktu za horka v asi 10 ml methanolu a ponecháním vychladnout. Vzniklé bezbarvé krystaly byly odfiltrovány a vysušeny prosáváním vzduchem.

Bylo získáno 3,73 g, tj. 55 % produktu ve formě bílého krystalického prášku.

Charakterizace

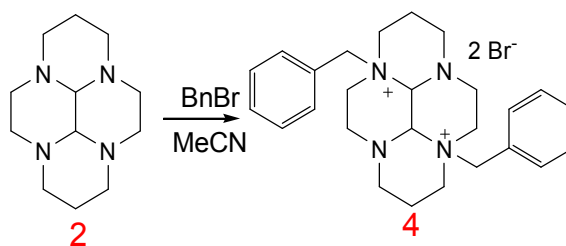
^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ : 1,87–2,00 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,2$); 2,29–2,52 (m, 2H); 2,74–2,88 (tm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 12,4$); 3,12–3,27 (m, 6H); 3,28–3,37 (dm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,1$); 3,40 (s, 6 H); 3,73 (tm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,1$); 3,75–3,81 (m, 2H); 4,41–4,56 (m, 2H); 4,71 (s, 2H)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 18,49; 46,24; 49,81; 51,10; 65,12; 76,64

MS (ESI) (+): 236,8 (M-Me) $^+$, vypočteno 237,2

$T_{\text{f}} = -220\text{ }^\circ\text{C dec.}$ (literatura³⁴ $-220\text{ }^\circ\text{C dec.}$)

Perhydro-3a,8a-bis(benzyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (4)



Syntéza byla provedena podle upraveného návodu uvedeného v literatuře^{34,35}.

V kulaté varné baňce o objemu 1000 ml opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 15,0 g (68 mmol) látky **2** v 175 ml suchého acetonitrilu. Baňka byla uzavřena septem. Za intenzivního míchání bylo injekční stříkačkou přidáno skrz septum 28,0 ml (40,3 g, 235 mmol, 3,5 ekv.) benzylbromidu. Jakmile došlo ke vzniku bílé sraženiny (po asi 10 minutách), byla směs zředěna přilítím 400 ml suchého acetonitrilu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a za míchání ponechána reagovat při RT 3 týdny.

Vzniklá bílá sraženina byla odfiltrována na fritě a promyta 2× asi 50 ml Et₂O. Produkt byl ponechán sušit prosáváním vzduchem a následně dosušen v evakuovaném exsikátoru.

Matečný louh byl odpařen do sucha, odparek byl rozpuštěn ve 150 ml suchého acetonitrilu. K roztoku bylo přidáno 5 ml a (7,19 g, 42 mmol) benzylbromidu. Roztok byl uzavřen skleněnou zátkou a ponechán reagovat za stálého míchání při RT další 2 týdny. Tím byla získána 2. frakce produktu.

Bylo získáno celkem 37,3 g, tj. 98 % produktu ve formě bílého prášku.

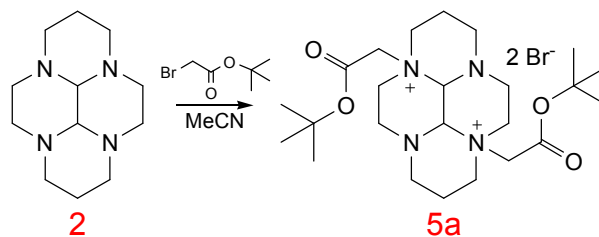
Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ: 1,91 (d, 2H, ³J_{H-H} = 14,8); 2,27 (q, 2H, ³J_{H-H} = 13,3); 2,88 (t, 2H, ³J_{H-H} = 12,6); 3,23 (d, 4H, ³J_{H-H} = 13,1); 3,38–3,66 (m, 6H); 3,77 (t, 2H, ³J_{H-H} = 12,9); 4,41 (t, 2H, ³J_{H-H} = 13,1); 4,79 a 5,31 (AB, 4H); 5,15 (s, 2H); 7,53–7,68 (m, 10H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ: 17,94; 45,98; 46,72; 51,16; 60,43; 62,33; 76,76; 124,64; 129,42; 131,36; 133,17

MS (ESI) (+): 483,0 a 485,0 (M–Br)⁺, vypočteno 483,2 a 485,2 (izotopové zastoupení Br); 312,9 (M–Bn)⁺, vypočteno 312,2

Perhydro-3a,8a-bis(*tert*-butylkarboxymethyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (5a)

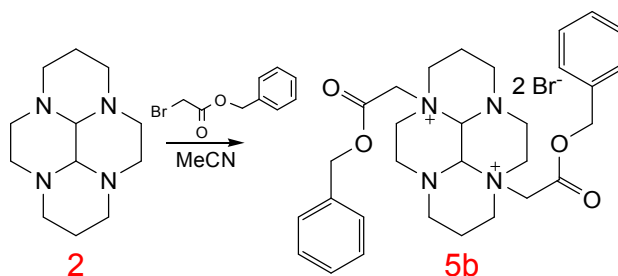


Do 4ml skleněné ampule opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 0,1063 g (4,8 mmol) látky **2**. Ampule byla vyfoukána argonem a za stálého proudu argonu byl pomocí injekční stříkačky přidán 1 ml suchého acetonitrilu. Po rozpuštění pevné látky, bylo k roztoku injekční stříkačkou přidáno 0,66 ml (0,88 g, 10 ekv.) *tert*-butylbromacetátu. Ampule byla za stálého proudu argonu zatavena a ponechána za míchání reagovat při RT. Po 3 dnech došlo v ampuli ke vzniku bílé sraženiny. Po měsíci byla ampule otevřena a obsah analyzován pomocí hmotnostní spektrometrie, která ukázala, že reakce neproběhla uspokojivě, ve spektru byly nalezeny píky odpovídající směsi jednou naalkylovaného cyklu a chtěného produktu. Produkt reakce nebyl dále zpracováván.

Charakterizace

MS (ESI) (+): 450,6 (M-H)⁺, vypočteno 451,3; 394,5 (M-(*t*-Bu))⁺, vypočteno 395,3; 336,5 (M-*t*BuOOCCH₂)⁺, vypočteno 337,3; 280,5 (M-(*t*-Bu)-(*t*-Bu)OOCCH₂)⁺, vypočteno 281,2

Perhydro-3a,8a-bis(benzylkarboxymethyl)-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (5b)



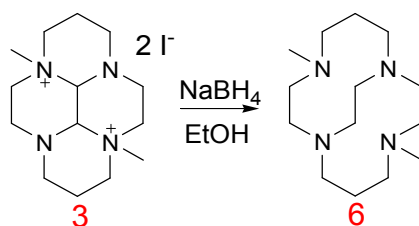
Do 4ml skleněné ampule opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 0,1003 g (4,5 mmol) látky **2**. Ampule byla vyfoukána argonem a za stálého proudu argonu byl pomocí injekční stříkačky přidán 1 ml suchého acetonitrilu. Po rozpuštění pevné látky, bylo k roztoku injekční stříkačkou přidáno 0,67 ml (1,03 g, 10 ekv.) benzylbromacetátu. Ampule byla

za stálého proudu argonu zatavena a ponechána za míchání reagovat při RT. Po měsíci byla ampule otevřena a reakční směs zkoumána pomocí MS. Analýzou hmotnostních spekter bylo zjištěno, že se jedná o směs jednou naalkylované látky **2** a produktu **5b**. Reakční směs nebyla dále zpracovávána.

Charakterizace

MS (ESI) (+): 518,7 (M-H)⁺, vypočteno 529,3; 428,6 (M-Bn)⁺, vypočteno 429,3, 370,6 (M-BnOOCCH₂)⁺, vypočteno 371,2

4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (**6**)



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁴.

V 500ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo suspendováno 3,73 g (7,1 mmol) látky **3** ve 130 ml EtOH. Po malých dávkách bylo do reakční směsi za intenzivního míchání přidáno během půl hodiny 2,62 g (70 mmol, 10 ekv.) NaBH₄. Reakce byla za stálého míchání ponechána reagovat při RT 3 dny. Následně byla reakce ukončena opatrným přikapáním 20 ml 10% kyseliny chlorovodíkové. Reakční směs byla odpařena na RVO dosucha, odparek byl rozpuštěn v asi 100 ml 10% NaOH. Roztok byl následně extrahován 4× 50 ml chloroformu. Chloroformové frakce byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny na RVO dosucha. Surovým produktem byla nažloutlá viskózní kapalina.

Surový produkt byl převeden do baničky na kugelrohr, přidány asi 3 g jemně rozdrceného NaOH a produkt byl destilován na kugelrohu při teplotě 80 °C a tlaku 5·10⁻¹ mbar. Produkt byl pod proudem argonu převeden do Schlenkovy zkumavky, ve které byl dále skladován.

Bylo získáno 1,24 g, tj. 69 % produktu ve formě bezbarvého viskózního oleje.

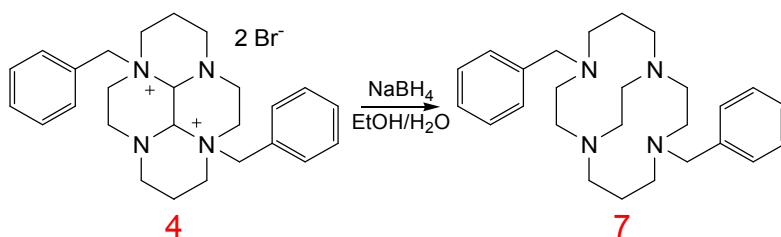
Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ: 1,29-1,53 (m, 4H); 2,16 (s, 6H); 2,24-2,42 (m, 8H), 2,55-2,65 (m, 4H); 2,88-3,05 (m, 4H); 3,27-3,40 (m, 2H); 3,75-3,88 (m, 2H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, CDCl₃) δ: 26,73; 43,22; 52,36; 54,75; 55,94; 56,66; 58,75

MS (ESI) (+): 255,0 (M+H)⁺, vypočteno 255,3

4,11-dibenzyl-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (7)



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře^{34,36}.

V 1000ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo ve směsi 300 ml EtOH a 75 ml H₂O rozpuštěno 15,0 g (27 mmol) látky **4**. Za intenzivního míchání bylo do reakční směsi postupně během 30 minut přisypáno 6,0 g (159 mmol, 6 ekv.) NaBH₄. Směs byla ponechána míchat přes noc při RT. Následně byla reakce zastavena pomalým přidáním asi 50 ml 1:4 HCl. Směs byla odpařena do sucha na RVO, odparek byl rozpuštěn v 250 ml 5% roztoku NaOH. Univerzálním indikátorovým papírkem bylo zkontrolováno, že pH roztoku je ~14. Roztok byl následně extrahován 4× 100 ml chloroformu. Organické frakce byly spojeny, vysušeny bezvodým Na₂SO₄ a odpařeny na RVO do sucha. Vzniklý surový produkt byl rozpuštěn v horkém acetonu, roztok byl za horka přefiltrován a ponechán krystalizovat samovolným vychladnutím roztoku.

Bylo získáno 9,6 g, tj 89 % produktu ve formě bezbarvých krystalů.

Charakterizace

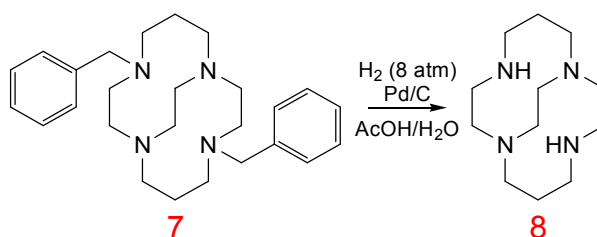
¹H NMR (600 MHz, CDCl₃) δ: 1,68–1,79 (m, 4H); 2,67–2,73 (m, 2H); 2,79–2,85 (m, 2H); 2,90–3,02 (m, 6H); 3,15–3,28 (m, 8H); 3,66–3,74 (m, 2H); 3,76 (s, 4H); 7,22–7,38 (m, 10H); 10,73 (bs, 1H, proton v kavitě)

¹³C{¹H} NMR (150 MHz, CDCl₃) δ: 24,12; 50,22; 52,00; 53,29; 54,27; 57,70; 57,80; 127,75; 128,49; 135,53

MS (ESI) (+): 407,0 (M+H)⁺, vypočteno 407,3

TLC Merck, EtOH/NH₃ (aq) 1:1, detekce ninhydrin, R_f = 0,8

1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (8)



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁶.

Do skleněného autoklávu opatřeného magnetickým míchadlem byl navážen 1,0 g katalyzátoru 10% Pd/C. Katalyzátor byl suspendován ve směsi 170 ml kyseliny octové a 40 ml H₂O. Autokláv byl uzavřen, krátce evakuován a natlakován argonem na tlak 3 atm. Suspenze byla ponechána 30 minut intenzivně míchat. Následně byl autokláv odtlakován, otevřen a do reakční směsi bylo přidáno 10,0 g (25 mmol) látky 7. Autokláv byl zavřen, krátce evakuován a natlakován vodíkem na tlak 8 atm. Směs byla míchána při RT po dobu 7 dní, každý den byl do reakční nádoby doplněn vodík do tlaku 8 atmosfér. Po týdnu byl autokláv odtlakován, krátce evakuován a otevřen. Z reakční směsi byl odebrán vzorek na změření MS, hmotnostní spektrum ukázalo, že nedošlo k dokončení reakce, směs obsahuje ještě část nezreagované výchozí látky. Z reakční směsi byl odfiltrován katalyzátor, ten byl na filtru promyt kyselinou octovou zředěnou 1:1 vodou. K filtrátu bylo přidáno 1,0 g čerstvého katalyzátoru 10% Pd/C. Reakční směs byla přelita do autoklávu, krátce evakuována a natlakována vodíkem na tlak 8 atm. Směs byla míchána při RT další 4 dny. Následně by autokláv opět odtlakován, krátce evakuován. Tentokrát MS ukázala, že došlo k vymizení veškeré výchozí látky.

Reakční směs byla přefiltrována přes skládaný papírový filtr, filtrát byl odpařen na RVO. Odparek ve formě viskózního oleje byl rozpuštěn ve 200 ml 10% vodného roztoku NaOH. Pomocí pH papírku bylo zkontrolováno, že pH je silně bazické (~14). Roztok byl následně extrahován 5× 50 ml chloroformu. Chloroformové extrakty byly spojeny, vysušeny pomocí Na₂SO₄ a odpařeny na RVO do sucha. Surovým produktem byl nažloutlý viskózní olej.

Surový produkt byl převeden do baničky na kugellohr, k produktu bylo přidáno asi 5 g jemně rozetřeného NaOH. Produkt byl destilován na kugellohru při tlaku 0,2 mbar a teplotě 100 °C. Předestilovaný produkt ve formě bezbarvého viskózního oleje byl pod atmosférou

argonu převeden do Schlenkovy zkumavky, ve které byl produkt skladován. Při stání přes noc došlo k vykryštalizování produktu za vzniku bílé krystalické hmoty.

Bylo získáno 4,6 g, tj. 83 % produktu ve formě čistě bílé prokryštalizované hmoty.

Charakterizace

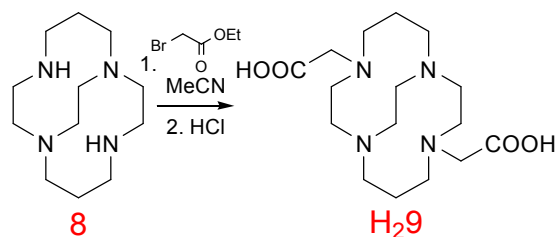
^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ : 1,22-1,36 (dm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,4$); 1,85-2,01 (dm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,4$); 2,35-2,46 (m, 4H); 2,61-2,72 (m, 6H); 2,73-2,77 (m, 2H); 2,77-2,82 (m, 2H); 2,82-2,98 (m, 4H); 3,11 (tm, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 9,9$); 3,80 (bs, 2H, NH)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, CDCl_3) δ : 22,87; 43,71; 49,18; 50,96; 57,30; 59,64

MS (ESI) (+): 227,3 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, vypočteno 227,2

TLC Merck, EtOH/ NH_3 (aq) 1:1, detekce ninhydrin, $R_f = 0,2$

4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan ($\text{H}_2\text{9}$)



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁶.

Do 100ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 1,0 g (4,4 mmol) látky **8**. Do baňky bylo přidáno 1,5 g (9,4 mmol, 2 ekv.) čerstvě vyžíhaného Na_2CO_3 a 30 ml acetonitrilu. Následně bylo injekční stříkačkou přidáno 1,5 g (9,0 mmol, 2 ekv.) ethylbromacetátu. Suspenze byla nechána míchat přes noc pod zpětným chladičem v olejové lázni vyhřáté na 50 °C. Reakční směs byla přefiltrována, pevný podíl promyt acetonitrilem a filtrát odpařen na RVO. Produktem byla nažloutlá viskózní kapalina. Ta byla rozpuštěna v asi 30 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové (1:1), převedena do 100ml kulaté varné baňky opatřené magnetickým míchadlem a směs byla pod zpětným chladičem za stálého míchání zahřívána 3 dny na olejové lázni vyhřáté na teplotu 75 °C. Reakční směs byla po vychladnutí odpařena na RVO do sucha, vzniklý olejovitý odparek byl rozpuštěn v asi 10 ml destilované vody a převeden na silný aniontový iontoměnič (Dowex 1) v OH^- -cyklu. (Bylo použito asi 50 ml iontoměniče.) Surový produkt byl z kolony vymyt 10% roztokem kyseliny octové. Eluát byl zahuštěn na RVO, stáním přes noc se z roztoku vyloučil slabě nažloutlý

krystalický prášek, který byl odsát na fritě a promyt acetonem. Další frakce produktu byla získána srážením matečného louhu acetonem.

Bylo získáno 1,2 g, tj. 68 % produktu ve formě slabě nažloutlého krystalického prášku.

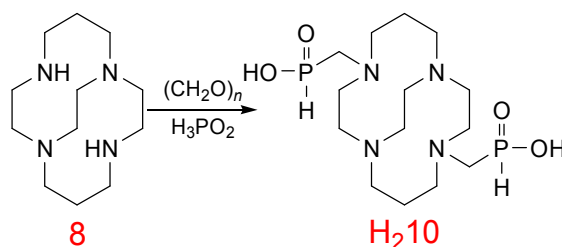
Charakterizace

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ : 1,74 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 16,5$); 2,21–2,46 (m, 2H); 2,59 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,7$); 2,83–3,54 (m, 18 H); 3,58–3,81 (m, 2H); 4,14 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 15,6$)

$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 19,74; 48,34; 48,82; 51,98; 56,84; 58,09; 58,36; 170,78

MS (ESI) (+): 343,0 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, vypočteno 343,2

4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan ($\text{H}_2\text{10}$)



V 50ml hruškovité varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 0,5 g (2,2 mmol) látky **8** v 15 ml 50% roztoku H_3PO_2 . K roztoku bylo přidáno 0,2 g (6,6 mmol, 1,5 ekv.) paraformaldehydu a reakční směs byla uzavřena skleněnou zátkou. Směs byla ponechána míchat při 30 °C přes noc, následně byla zahuštěna na RVO při teplotě lázně 40 °C. Zahuštěný roztok byl nanesen na sloupec silného kationtového iontoměniče (Dowex-50) v H^+ -cyklu (asi 50 ml). Nezreagovaná kyselina fosporná a další vedlejší produkty nekationtového charakteru byly z iontoměniče vymyty vodou do neutrality. Produkt byl vymyt 5% vodným roztokem NH_3 a odpařen na RVO za vzniku nažloutlého viskózního oleje.

Surový produkt byl následně chromatografován na slabém kationtovém iontoměniči (Amberlite CG-50) v H^+ -cyklu (asi 50 ml). Kolona byla promývána vodou a byly sbírány frakce po asi 50 ml. Jednotlivé frakce byly odpařeny a byly spojeny ty, které obsahovaly produkt ve formě bezbarvé olejovité kapaliny, která po několikadenním stání vykryštovala za vzniku bezbarvých destičkovitých krystalků.

Bylo získáno 311,4 mg, tj. 37 % produktu ve formě bezbarvých destičkovitých krystalků.

Charakterizace

^1H NMR (300 MHz, D_2O) δ : 1,81 (bd, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 16,72$); 2,31–2,50 (m, 2H); 2,61 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 13,7$); 2,74–2,87 (m, 2H) 2,94 (d, 2H, $^3J_{\text{H-H}} = 12,0$); 3,10–3,24 (m, 6H); 3,38–3,53 (m, 4H); 3,61–3,94 (m, 8H); 6,39 a 8,23 (d, 2H, $^1J_{\text{P-H}} = 551,7$)

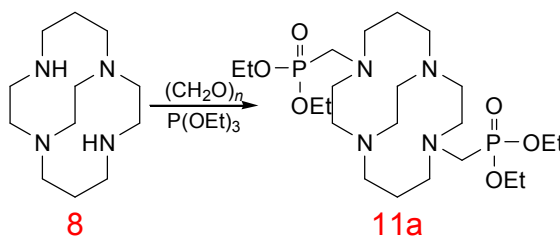
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 19,49; 47,91; 50,98; 52,62; 53,64; 57,57; 58,45

^{31}P NMR (121 MHz, D_2O) δ : 11,70 (d, $^1J_{\text{P-H}} = 550,7$)

MS (ESI) (+): 383,8 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, vypočteno 383,2

MS (ESI) (–): 381,6 ($\text{M}-\text{H}$) $^-$, vypočteno 381,2

4,11-bis(diethoxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekan (11a)



Do 25ml hruškovité varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 1,0 g (4,4 mmol) látky **8**, bylo přidáno 0,4 g (12 mmol, 1,5 ekv.) paraformaldehydu. Do baňky bylo injekční stříkačkou přidáno 7,3 ml (7,1 g, 43mmol, 5 ekv.) triethylfosfitu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a reakční směs byla ponechána míchat dva dny při 50 °C. Následně byl triethylfosfit oddestilován za vysokého vakua při teplotě 40 °C, odparek byl rozpuštěn v asi 100 ml 10% NaOH. Roztok byl extrahován 3× 50 ml chloroformu, organické frakce byly vysušeny bezvodým Na_2SO_4 , spojeny a odpařeny do sucha. Produkt ve formě žlutého viskózního oleje po delším stání prokrytalizoval.

Bylo získáno 1,84 g, tj. 79 % produktu ve formě žluté voskovité látky.

Charakterizace

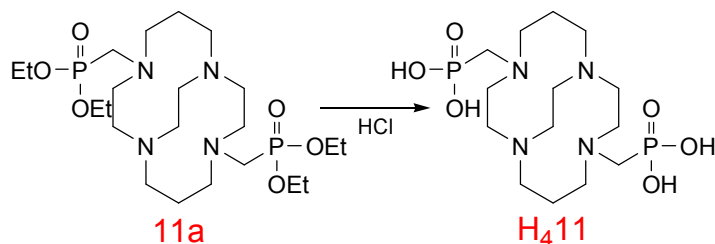
$^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ NMR (75 MHz, D_2O) δ : 15,37; 15,45; 18,91; 46,17; 46,91; 48,07; 52,93; 55,98; 60,82; 63,68; 63,77; 63,87

$^{31}\text{P}\{^1\text{H}\}$ NMR (121 MHz, D_2O) δ : 24,03

MS (ESI) (+): 526,1 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, vypočteno 527,3

MS (ESI) (–): 496,2 ($\text{M}-\text{Et}$) $^-$, vypočteno 497,3

**4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]
hexadekan (H₄11)**



Příprava byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁷.

V 50ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem bylo rozpuštěno 1,84 g látky **11a** (3,5 mmol) v 50 ml HCl 1:1. Směs byla pod zpětným chladičem zahřívána v olejové lázni vyhřáté na 80 °C dva dny. Směs byla následně odpařena na RVO dosucha a odparek byl ještě třikrát rozpuštěn v asi 20 ml vody a odpařen na RVO do sucha. Odparek byl následně rozpouštěn ve vodě a nanesen na silný kationtový iontoměnič (Dowex-50) v H⁺-cyklu (asi 50 ml). Nečistoty nekationtového charakteru byly vymyty vodou do neutrality a produkt byl vypláchnut 5% roztokem pyridinu. Pyridinová frakce byla odpařena na RVO, následně rozpuštěna v asi 10 ml vody a nanesena na slabý kationtový iontoměnič (Amberlite CG-50) v H⁺-cyklu (asi 50 ml). Kolona byla eluována vodou a byly sbírány frakce po asi 30 ml. Jednotlivé frakce byly odpařeny dosucha, frakce obsahující produkt byly spojeny.

Produktem byl žlutá viskózní olejovitá kapalina s čistotou dosahující asi 90 % (dle ³¹P NMR).

Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ: 1,64-1,81(m, 2H); 2,17-2,38 (m, 2H); 2,39-2,52 (m, 2H); 2,76-3,45 (m, 16H); 3,62-3,74 (m, 2H); 3,93-4,05 (m, 2H); 4,13-4,28 (m, 2H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ: 22,06; 50,58; 53,19; 54,31; 54,42; 54,56; 55,01; 59,99; 60,44

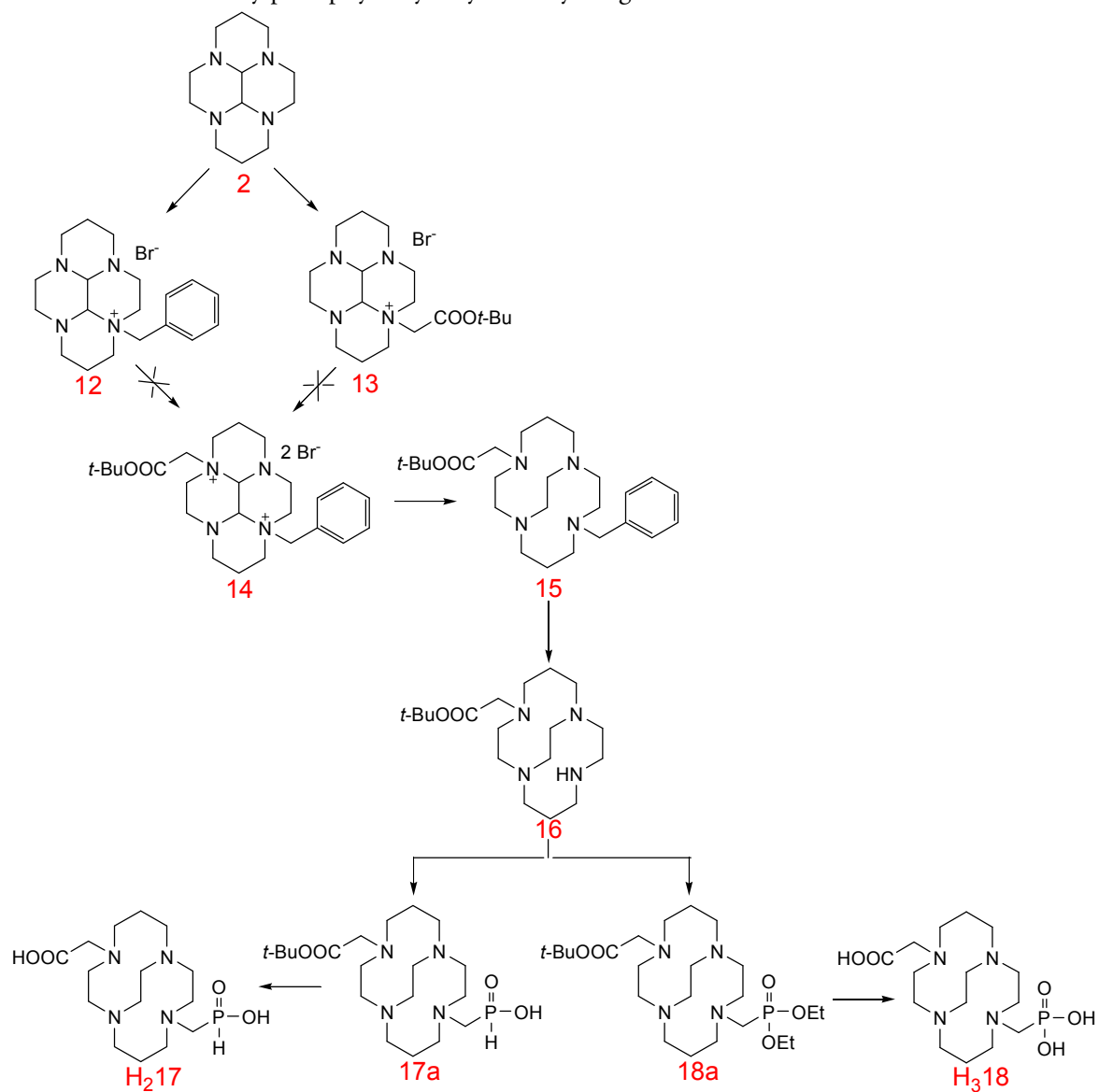
³¹P{¹H} NMR (121 MHz, D₂O) δ: 9,61

MS (ESI) (+): 414,8 (M+H)⁺, vypočteno 415,2

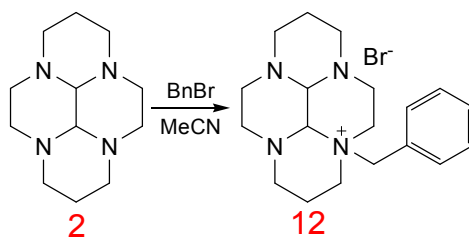
MS (ESI) (-): 412,7 (M-H)⁻, vypočteno 413,2

Příprava asymetrických ligandů

Schéma 5.2 Navržený postup syntézy nesymetrických ligandů



Perhydro-3a-benzyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (12)



Syntéza byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře³⁸.

Do 50ml hruškovité varné baňky opatřené magnetickým míchadlem byly naváženy 2,0 g (9 mmol) látky **2**. Injekční stříkačkou bylo přidáno 10 ml suchého MeCN a následně bylo injekční stříkačkou přikapáno 3,1 ml (4,5 g, 3 ekv.) benzylbromidu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a reakce byla ponechána míchat 2 hodiny. Během této doby došlo v reakční baňce k vysrážení bílé sraženiny. K reakční směsi bylo přilito 10 ml Et₂O a směs byla přefiltrována za sníženého tlaku na fritě. Produkt byl na fritě promyt asi 20 ml Et₂O a ponechán doschnout v evakuovaném exsikátoru.

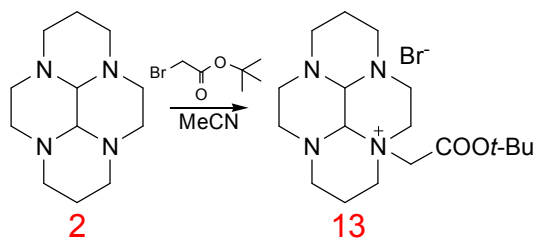
Produktem bylo 3,25 g, tj. 92 % produktu ve formě bílého prášku.

Charakterizace

¹H NMR (300 MHz, D₂O)δ: 1,48 (m, 1H); 1,79 (m, 1H); 2,07 (m, 2H); 2,12-2,36 (m, 2H); 2,42-2,56 (m, 2H); 2,66 (m, 1H); 2,96-3,19 (m, 6H); 3,32 (m, 2H); 3,53 (m, 2H); 2,03 (s, 1H); 4,20 (m, 1H); 4,39 (s, 1H); 4,79 (d, 1H, ³J_{H-H} = 13,5); 5,7 (d, 1H, ³J_{H-H} = 13,3); 7,56-7,65 (m, 5H)

MS (ESI) (+): 313,3 (M-Br⁻)⁺, vypočteno 313,2

Perhydro-3a-*tert*-butylkarboxymethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (13)



Do 50 ml hruškovité varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 1,00 g (4,5 mmol) látky **2**. Injekční stříkačkou bylo přidáno 20 ml suchého MeCN a 0,65 ml (0,83 g, 4,3 mmol, 0,95 ekv.) *tert*-butylbromacetátu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a

ponechána míchat za laboratorní teploty 14 dní. Reakční směs byla zahuštěna na RVO, odparek rozpuštěn v asi 10 ml vody a nečistoty hydrofóbní povahy byly extrahovány 3× 20 ml Et₂O. Vodná frakce byla odpařena do sucha za vzniku světle žluté krystalické hmoty.

Produktem bylo 1,72 g, tj. 92% produktu ve formě žluté prokrystalizované pevné látky.

Difúzí Et₂O do ethanolického roztoku produktu byl vypěstován krystal vhodný pro rentgenostrukturní analýzu. Ta ale ukázala, že se jedná o látku, která neobsahuje ve své struktuře *terc*-butylovou skupinu.

Charakterizace

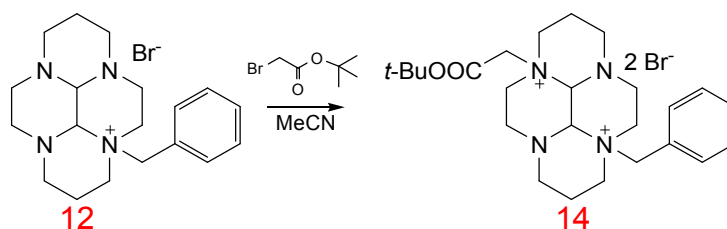
¹H NMR (300 MHz, D₂O) δ: 1,41 (m, 1H); 1,55 (s, 9H); 1,90 (m, 1H); 2,09 (s, 1H); 2,13-2,65 (m, 6H); 2,90-3,16 (m, 6H), 3,42-3,69 (m, 2H); 3,82 (m, 2H); 4,05 (s, 1H); 4,65-4,80 (m, 2H)

¹³C{¹H} NMR (75 MHz, D₂O) δ: 17,9; 18,6; 27,1; 41,9; 46,1; 50,1; 51,2; 52,0; 53,2; 53,7; 58,3; 61,4; 69,3; 82,7; 87,0; 163,2

MS (ESI) (+): 337,4 (M–Br[–])⁺, vypočteno 337,3; 281,3 (M–Br[–]–*t*-Bu)⁺, vypočteno 281,2

Perhydro-3a-benzyl-8a-*terc*-butylkarboxymethyl-3a,5a,8a,10a-tetraazapyrenium bromid (14)

Syntéza z látky 12



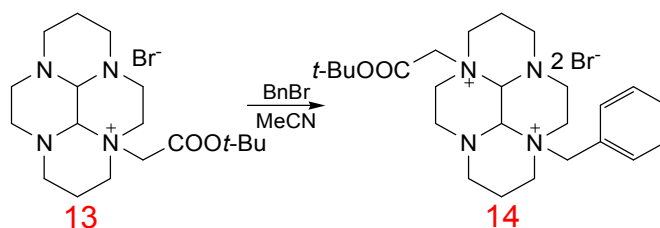
Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁹.

V 250ml kulaté varné baňce opatřené magnetickým míchadlem byl rozpouštěn 1,00 g (2,5 mmol) látky **12** v 90 ml suchého MeCN. Do míchané reakční směsi bylo injekční stříkačkou přidáno 5 ml (6,6 g, 34 mmol, 13 ekv.) *terc*-butylbromacetátu. Směs byla uzavřena skleněnou zátkou a ponechána míchat za RT 1 měsíc. Během této doby bylo složení reakční směsi kontrolováno pomocí MS. Vzhledem malému množství produktu v reakční směsi nebyl produkt separován.

Charakterizace

MS (ESI) (+): 427,8 (M–H–Br[−])⁺, vypočteno 427,3

Syntéza z látky 13



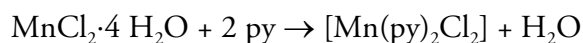
Do 25 ml hruškovité varné baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 0,10 g (0,24 mmol) látky **13**. Pevná látka byla rozpuštěna v 5 ml suchého MeCN a byly injekční stříkačkou přidány 2 ml (2,9 g, 17 mmol, 70 ekv.) benzylbromidu. Baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a byla ponechána míchat 1 měsíc při RT. Během té doby bylo složení směsi kontrolováno pomocí MS. Produkt byl identifikován pomocí MS, ale vzhledem k jeho malému množství nebyl separován.

Charakterizace

MS (ESI) (+): 427,8 (M–H–Br[−])⁺, vypočteno 427,3; 371,7 (M–*t*-Bu–Br[−])⁺, vypočteno 371,2

Příprava Mn²⁺ komplexů

Chlorid bis(pyridin)manganatý ([Mn(py)₂Cl₂])



Syntéza byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře⁴⁰.

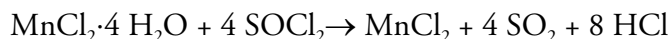
V 100ml Erlenmeyerově baňce byl připraven nasycený roztok tetrahydrátu chloridu manganatého rozpuštěním 5,0 g (25 mmol) soli v 25 ml EtOH. K roztoku byly pomocí injekční stříkačky přikapány 4,0 g (50 mmol, 1 ekv.) pyridinu. Po chvíli došlo k vysrážení světle růžové sraženiny produktu. Směs byla ponechána 30 minut dokrystalizovat, následně byl produkt odsát na fritě, promyt 20 ml EtOH a 10 ml Et₂O. Produkt byl následně ponechán dosušit v evakuovaném exsikátoru nad NaOH. Produkt byl dále uchováván pod atmosférou argonu ve schlenkovské baňce.

Bylo získáno 5,6 g, tj. 78 % produktu ve formě světle růžového prášku.

Charakterizace

Elementární analýza – C 42,32 %; H 3,2 %; N 9,76 %; Cl 24,64 %, pro C₁₀H₁₀Cl₂MnN₂ vypočteno: C 42,28 %; H 3,55 %; N 9,86 %; Cl 24,96 %

Chlorid manganatý (MnCl₂)

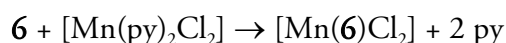


Reakce byla provedena podle postupu obecně používaného pro přípravu bezvodých chloridů z jejich hydrátů.

Tetrahydrát chloridu manganatého byl nejprve ponechán 4 hodiny v sušárně vyhřáté na teplotu 120 °C. Do 50ml hruškovité schlenkovské varné baňky opatřené magnetických míchadlem byly naváženy 2 g takto předsušeného tetrahydrátu chloridu manganatého. Na baňku byl nasazen zpětný chladič a skrz chladič bylo přidáno 10 ml thionylchloridu. Na chladič byl nasazen přívod argonu, vznikající plyny byly vedeny přes promývačku obsahující 20% roztok NaOH. Směs v reakční baňce byla zahřívána přes noc na olejové lázni vyhřáté na 90 °C. Poté bylo vypnuto chlazení a přebytečný thionylchlorid byl ponechán odpařit do promývačky s roztokem hydroxidu. Schlenkovská baňka s produktem byla uchovávána pod atmosférou argonu.

Bylo získáno 1,2 g, tj. 95 % produktu ve formě nažloutlého prášku.

[Mn(6)Cl₂]

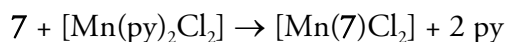


Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře⁴¹.

Do vyžíhané 4ml skleněné ampulky s magnetickým míchadlem uvnitř bylo naváženo 62 mg (0,22 mmol, 0,5 ekv.) [Mn(py)₂Cl₂], bylo přidáno asi 5 mg NH₂OH·HCl. Ampule byla vyfoukána argonem a pod stálým proudem argonu byla uzavřena septem. Pomocí Hamiltonovy injekční stříkačky bylo do ampule vpraveno skrz septum 130 mg (0,51 mmol) látky 6. Do ampule byly injekční stříkačkou skrz septum přidány 3 ml bezvodého bezkyslíkatého MeCN. Ampule byla ochlazena v kapalném dusíku a za stálého proudu argonu zatavena. Ampule byla ponechána míchat za laboratorní teploty týden. Poté byla rychle otevřena a otevřená část ampule byla zavřena do schlenkovské zkumavky uzavřené septem. Obsah ampule byl pomocí kanyly přenesen na schlenkovskou fritu, přes kterou byl roztok přefiltrován a filtrát byl ponechán zahustit v schlenkovské baňce za sníženého tlaku. Pevná látka byla přefiltrována přes schlenkovskou fritu, promyta 1 ml suchého bezkyslíkatého MeCN a ponechána dosušit ve vakuu. Produkt byl uchováván pod atmosférou argonu v schlenkovské zkumavce.

Bylo získáno 52 mg, tj. 62 % produktu ve formě nažloutlé pevné látky.

[Mn(7)Cl₂]



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře⁴².

Do vyžíhané 4ml skleněné ampulky s magnetickým míchadlem uvnitř bylo naváženo 202 mg (0,50 mmol) látky 7, 62 mg (0,22 mmol, 0,5 ekv.) [Mn(py)₂Cl₂] a bylo přidáno asi 5 mg NH₂OH·HCl. Ampule byla vyfoukána argonem a pod stálým proudem argonu byla uzavřena septem. Do ampule bylo injekční stříkačkou skrz septum přidáno 1,5 ml suchého bezkyslíkatého Et₃N a 1,5 ml bezvodého bezkyslíkatého MeCN. Ampule byla ochlazena v kapalném dusíku a za stálého proudu argonu zatavena. Reakční směs byla ponechána míchat za laboratorní teploty týden, během této doby došlo k vysrážení bílé sraženiny.

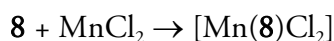
Ampule byla rychle otevřena a otevřená část ampule byla zavřena do schlenkovské zkumavky uzavřené septem. Obsah ampule byl pomocí kanyly přenesen na schlenkovskou fritu, přes

kterou byl roztok přefiltrován. Produkt byl na fritě promyt 1 ml suchého bezkyslíkatého MeCN a ponechán dosušit ve vakuu. Produkt byl uchováván pod atmosférou argonu ve schlenkovské zkumavce.

Charakterizace

Elementární analýza – C 55,01 %; H 6,66 %; N 9,75 %; pro $C_{26}H_{38}Cl_2MnN_4$ vypočteno: C 58,65 %; H 7,19 %; N 10,52 %

[Mn(8)Cl₂]



Syntéza byla provedena podle upraveného postupu uvedeného v literatuře⁴².

Do vysekurované schlenkovské zkumavky bylo pod proudem argonu naváženo 0,35 g látky **8** (1,5 mmol) a 0,24 g bezvodého $MnCl_2$ (1,9 mmol, 1,2 ekv.). Do zkumavky bylo injekční stříkačkou přidáno 5 ml bezkyslíkatého bezvodého DMF. Směs byla míchána pod atmosférou argonu přes noc.

Vzniklá sraženina byla odfiltrována na fritě pod atmosférou argonu, promyta bezvodým bezkyslíkatým Et_2O a vysušena proudem argonu. Produkt byl uchováván pod atmosférou argonu ve schlenkovské zkumavce.

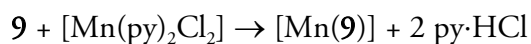
Bylo získáno 320 mg, tj. 59 % produktu ve formě čistě bílého prášku.

Charakterizace

Elementární analýza – C 41,05 %; H 7,36 %; N 15,91 %; pro $C_{12}H_{26}Cl_2MnN_4$ vypočteno: C 40,92 %; H 7,44 %; N 15,91 %

MS (ESI) (+): 315,8 ($M-Cl$)⁺, vypočteno 316,1

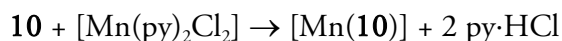
[Mn(9)]



Do 25ml schlenkovské baňky opatřené magnetickým míchadlem bylo naváženo 0,30 g (0,88 mmol) látky **9** a 0,25 g (0,88 mmol, 1 ekv.) $[Mn(py)_2Cl_2]$. Baňka byla uzavřena septem a vysekurována. Skrz septum bylo přidáno 10 ml bezvodého bezkyslíkatého MeCN, baňka byla uzavřena skleněnou zátkou a pod atmosférou argonu byla ponechána míchat 48 hodin. Během této doby došlo v reakční nádobě ke vzniku bílé sraženiny.

Za protiproudu argonu byla na baňku nasazena schlenkovská frit a produkt byl odfiltrován v inertní atmosféře. Produkt na fritě byl promyt 2 ml bevodého bezkyslíkatého MeCN a ponechán sušit ve vakuu. Produkt byl uchováván pod atmosférou argonu ve schlenkovské zkumavce.

[Mn(10)]



Do vyžíhané 4ml skleněné ampulky s magnetickým míchadlem uvnitř bylo naváženo 45,7 mg (0,12 mmol) látky **10**, 40 mg (0,14 mmol, 1,2 ekv.) $[\text{Mn}(\text{py})_2\text{Cl}_2]$ a bylo přidáno asi 5 mg $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$. Ampule byla vyfoukána argonem a pod stálým proudem argonu byla uzavřena septem. Do ampule bylo injekční stříkačkou skrz septum přidáno 1,5 ml suchého bezkyslíkatého MeCN. Ampule byla ochlazena v kapalném dusíku a za stálého proudu argonu zatavena. Reakční směs byla ponechána míchat za laboratorní teploty týden, během této doby došlo k vysrážení bílé sraženiny.

Ampule byla rychle otevřena a otevřená část ampule byla zavřena do schlenkovské zkumavky uzavřené septem. Obsah ampule byl pomocí kanyly přenesen na schlenkovskou fritu, přes kterou byl roztok přefiltrován. Produkt byl na fritě promyt 1 ml suchého bezkyslíkatého MeCN a ponechán doschnout ve vakuu. Produkt byl uchováván pod atmosférou argonu ve schlenkovské zkumavce.

Bylo získáno 100 mg produktu ve formě čistě bílého prášku.

Měření redoxních vlastností a stabilit

Cyklická voltametrie v bezvodém prostředí

Do vysušené elektrochemické cely bylo naváženo asi 350 mg NBu_4ClO_4 , přidáno magnetické míchadlo, cela byla uzavřena a byl spuštěn přívod dusíku z tlakové lahve. Do cely bylo injekční stříkačkou přidáno v protiproudu dusíku 10 ml suchého bezkyslíkatého acetonitrilu. Následně byla cela uzavřena, obsah byl promícháván probubláváním dusíku a magnetickým míchadlem. Po rozpuštění veškeré pevné látky byl přívod dusíku přepnut taky, aby dusík proudil nad hladinou kapaliny a vypnuto míchání. Následně bylo provedeno kontrolní měření, že roztok neobsahuje žádný rozpuštěný kyslík ani jiné elektroaktivní látky. Následně bylo do cely

v protiproudu dusíku přidáno asi 10 mg měřené látky, cela byla uzavřena a spuštěno míchání. Po rozpuštění veškeré pevné látky bylo míchání vypnuto a bylo provedeno měření. Po ukončení měření bylo do cely přidáno stejným způsobem asi 5 mg ferrocenu, jakožto vnitřního standardu a provedeno ještě jedno měření.

Z naměřených cyklovoltamogramů byly pomocí programu NOVA 1.10 odečteny hodnoty anodických a katodický píků a vypočteny redoxní potenciály jednotlivých látek (viz tabulka 6.1). Cyklovoltamogramy jsou k nahlédnutí v příloze (graf 9.1 až graf 9.6).

Cyklická voltametrie ve vodném prostředí

Pomocí cyklické voltametrie byly měřeny redoxní potenciály připravených komplexů. Dále byly pomocí cyklické voltametrie zkoumány rozklady komplexů v roztocích o různých pH, při tomto experimentu byl pozorován úbytek intenzity píků náležejících komplexu v čase.

Cyklická voltametrie připravených komplexů ve vodném prostředí byla měřena tak, že bylo do elektrochemické cely nalito asi 10 ml 0,1 M roztoku KCl a přidáno magnetické míchadlo. Cela byla uzavřena a roztok byl probubláván dusíkem z tlakové lahve po dobu asi 5 minut. Následně byl přívod dusíku přepnut tak, aby proud dusíku procházel nad hladinou roztoku v cele a byla provedena kontrolní cyklická voltametrie, zda roztok neobsahuje kyslík nebo jiné elektroaktivní částice, které by mohly komplikovat měření.

Do takto připravené cely bylo za protiproudu dusíku přidáno asi 15 mg vzorku a bylo zapnuto míchání, dokud se veškerý vzorek nerozpustil. Po rozpuštění pevné látky v cele bylo vypnuto míchání a změřena cyklická voltametrie.

Z naměřených cyklovoltamogramů byly pomocí programu NOVA 1.10 odečteny hodnoty anodických a katodický píků a vypočteny redoxní potenciály jednotlivých látek (viz tabulka 6.2). Voltamogramy jednotlivých látek jsou uvedeny v příloze (graf 9.7 až graf 9.12).

Stanovení stability komplexů pomocí CV

Pomocí cyklické voltametrie byl zkoumán rozklad komplexů $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ a $[\text{Mn(8)Cl}_2]$. Měření probíhalo pro každý komplex v roztocích o 3 různých pH. Konstantní hodnota pH byla udržována pomocí pufru.

Do elektrochemické cely byly pomocí automatické pipety napipetovány roztoky podle tabulky 5.1 (byly použity pufrы o koncentraci 500 mM a roztok KCl o koncentraci 0,2 M) a přidáno magnetické míchadlo. Pomocí pH metru bylo změřeno skutečné pH (viz tabulka 5.1), cela byla uzavřena a roztok probubláván asi 5 minut dusíkem z tlakové lahve procházející nejdříve promývačkou naplněnou 0,1M roztokem KCl. Následně byl přívod dusíku nastaven tak, aby dusík procházel nad hladinou roztoku v cele. Bylo provedeno kontrolní měření cyklické voltametrie, zda byl z cely odstraněn veškerý kyslík a roztok neobsahuje elektroaktivní částice, které by mohl komplikovat měření. Následně byla do cely v protiproudu dusíku přidána navážka komplexu (viz tabulka 5.1). Po dokonalém rozpuštění pevné látky bylo spuštěno měření cyklické voltametrie tak, že měření probíhalo rychlostí 250 mVs^{-1} v oblasti dříve změřeného reverzibilního píku přechodu $2+/3+$. Měření se opakovalo každé dvě minuty. Měření bylo ukončeno po asi hodině.

Pomocí programu NOVA 1.10 byly odečteny výšky píků v jednotlivých skenech a jejich velikost byla vynesena do grafu v závislosti na čase.

Tabulka 5.1 Složení roztoků pro stanovení stability pomocí voltametrie; MCA je pufr složený z monochloroctové kyseliny a NaOH, AcOH je pufr složený z octové kyseliny a NaOH, MES je pufr složený z 2-(*N*-morfolino)ethansulfonové kyseliny a NaOH

Pufr	V_{pufr} (ml)	V_{KCl} (ml)	$V_{\text{H}_2\text{O}}$ (ml)	pH	komplex	m (mg)	c (mM)
MCA	1	5	4	3,0	[Mn(6)Cl ₂]	9,4	2,47
AcOH	1	5	4	5,0	[Mn(6)Cl ₂]	9,6	2,52
MES	1	5	4	7,0	[Mn(6)Cl ₂]	9,5	2,50
MCA	1	5	4	3,1	[Mn(8)Cl ₂]	8,9	2,53
AcOH	1	5	4	4,9	[Mn(8)Cl ₂]	8,6	2,44
MES	1	5	4	6,8	[Mn(8)Cl ₂]	8,8	2,50

Relaxometrické měření

Měření relaxivit bylo prováděno na spektrometru VNMR300 při magnetickém poli 7,05 T (300 MHz) pomocí pulzní sekvence inversion-recovery.

Měření relaxivity volného Mn^{2+} iontu bylo provedeno se standardem MnSO_4 o koncentraci 45,11 mmol/l. Do NMR kyvety bylo pomocí automatické pipety napipetováno 0,4 ml standardního roztoku MnSO_4 , do kyvety byl vložen insert obsahující D_2O se standardem *t*-BuOH. Na tento roztok bylo provedeno nastavení maximální homogenity magnetického pole (shimming) a nakalibrována délka 180° pulzu. Následně bylo provedeno 20 měření

s proměnnou čekací dobou, časy byly rozděleny exponenciálně od hodnoty 0,1 ms s inkrementem 0,5. Z naměřených dat byla vypočtena hodnota T_1 a hodnota r_1 .

Následně byla připravena série vzorků pro měření relaxivit komplexů za různých hodnot pH. Byly použity celkem 3 pufrы o koncentraci 0,01 M, pro hodnotu pH okolo 3 to byl pufr z kyseliny monochloroctové (MCA) zneutralizované NaOH, pro hodnotu pH okolo 5 se jednalo o pufr acetátový (AcOH) a pro hodnotu pH okolo 7 se jednalo o pufr z 2-(*N*-morfolino)ethansulfonové kyseliny (MES) a NaOH.

Do malých vialek o objemu 1 ml byly naváženy připravené komplexy podle tabulky 5.2. Těsně před měřením bylo vždy do vialky pomocí automatické pipety napipetováno 0,4 ml pufru podle tabulky. Po rozpuštění pevné látky byl vzorek převeden do NMR kyvety, vložen insert a provedeno měření relaxivit.

Poté byly komplexy ve vzorcích rozloženy přidávkem 2 μ l koncentrované HClO_4 (kyselina byla přidávána pomocí automatické pipety). Směs byla nechána 30 minut reagovat a následně byla znovu změřena relaxivita.

Tabulka 5.2 Složení NMR vzorků při měření relaxací připravených komplexů

látká	<i>m</i> (mg)	pufr	pH
[Mn(6)Cl ₂]	3,6	MCA	3,00
[Mn(6)Cl ₂]	3,3	AcOH	4,74
[Mn(6)Cl ₂]	1,9	MES	7,23
[Mn(8)Cl ₂]	3,0	MCA	3,00
[Mn(8)Cl ₂]	2,4	AcOH	4,74
[Mn(8)Cl ₂]	3,2	MES	7,23
[Mn(9)]	1,8	AcOH	5,24
[Mn(9)]	1,9	MES	7,08
[Mn(10)]	3,1	MCA	2,96
[Mn(10)]	2,7	AcOH	4,99
[Mn(10)]	3,2	MES	6,91

Tabulka 5.3 Složení NMR kyvet při měření změn relaxivit komplexů [Mn(6)Cl₂] a [Mn(8)Cl₂] v čase

látká	<i>m</i> (mg)	pufr	pH
[Mn(6)Cl ₂]	3,6	MCA	3,00
[Mn(6)Cl ₂]	3,3	AcOH	4,74
[Mn(6)Cl ₂]	1,9	MES	7,23
[Mn(8)Cl ₂]	3,0	MCA	3,00
[Mn(8)Cl ₂]	2,4	AcOH	4,74
[Mn(8)Cl ₂]	3,2	MES	7,23

Z naměřených relaxačních časů vzorků po přidání HClO_4 a znalosti relaxivity volného dvojmocného manganu o přesné koncentraci byla zpětně vypočtena koncentrace Mn^{2+} ve vzorcích a tím potažmo i koncentrace manganatých komplexů.

Dále bylo zkoumáno, zda se mění relaxivita vodných roztoků komplexů $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ a $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ v čase.

Do NMR kyvet byly naváženy komplexy podle tabulky 5.3. Kyvety byly následně pomocí adaptéru připojeny k argon-vakuové lince a vysekurovány. Mezitím byly připravené pufrы o koncentraci 0,01 M důkladně probublány argonem a dále byly roztoky uchovávány pod atmosférou argonu. Pomocí Hamiltonovy stříkačky bylo skrz septum přidáno do kyvety 0,4 ml pufru podle tabulky 5.3. Následně byly kyvety se vzorky zataveny.

Relaxační časy jednotlivých připravených roztoků byly změřeny ihned po přípravě vzorku, následně poté po 24 a 48 hodinách. Nakonec byly kyvety otevřeny a pomocí Hamiltonovy stříkačky bylo přidáno 25 μl koncentrované HCl. Vzorky byly uzavřeny plastovými zátkami a ponechány stát při laboratorní teplotě do druhého dne, kdy byla změřena relaxivita rozložených komplexů. Z naměřených dat byly spočteny koncentrace Mn^{2+} iontů v kyvetách a relaxivity jednotlivých vzorků.

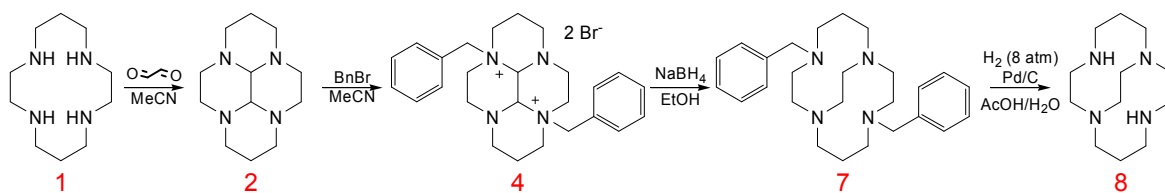
6 Výsledky a diskuze

Syntéza symetrických ligandů

Syntéza 1,4,8,11-tetraazabicyklo[6.6.2]hexadekanu (8)

Syntéza přemostěného cyklamů, základního skeletu pro syntézu dalších látek s pendantními skupinami byla provedena sledem reakcí podle postupů uvedených v literatuře^{33,34,36}.

Výchozí látkou pro tuto syntézu je cyklam (1), tato látka byla syntetizována podle ověřeného návodu v rámci pokročilých praktik z anorganické chemie na PřF UK.



Látka 2 byla nasyntetizována podle postupu popsáno v literatuře³³. U tohoto postupu byly upraveny navážky a byla přidána extrakce horkým hexanem. Celkem bylo dosaženo 77% výtěžku.

Při syntéze látky 4 je využito skutečnosti, že benzylová skupina je objemná a při reakci vzniká pouze derivát s benzyly navázanými vůči sobě v polohách „trans“ (3a,8a). Kvůli špatné rozpustnosti meziprojektu, kterým je jednou alkylovaný cyklus, je nutné ponechat směs reagovat celé 3 týdny. Při dřívějším odstavení reakce se snižoval výtěžek z důvodu vzniku jednou benzylovaného makrocyclu. Bylo dosaženo výtěžku 98 %. Nově byla publikována syntéza⁴³, která používá místo benzylobromidu jiných derivátů jako je 4-methylbenzyl bromid. Tím bylo dosaženo rapidních zkrácení reakční doby z několika týdnů na několik hodin.

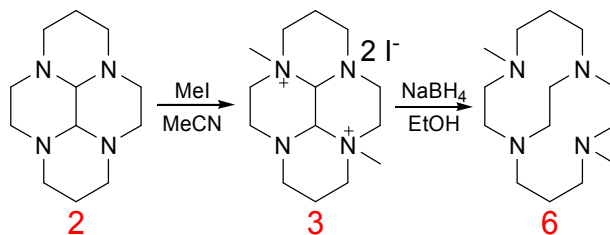
Následná redukce pyreniové soli pomocí NaBH_4 vedoucí k látce 7 probíhá podle postupu^{34,36} téměř kvantitativně s výtěžkem kolem 90 %. Jako rozpouštědlo se osvědčila směs vody a ethanolu, v této směsi je rozpustná jak výchozí látka, tak produkt této reakce. Vzniklý produkt je vhodné překrystalizovat z horkého acetonu.

Poslední krok této syntézy, kterým je hydrogenace látky 7 za vzniku přemostěného cyklamů byla oproti původnímu návodu³⁶ prováděna z důvodu rapidního zvětšení navážek v autoklávu natlakovaném plynným vodíkem. Oproti původnímu postupu bylo dosaženo daleko rychlejšího ukončení reakce. Látka 8 byla následně separována extrakcí a přečištěna a

deprotonována destilací z peciček NaOH za vysokého vakua na kugelrohu. Produktem oproti původnímu postupu byla bílá krystalická látka, bylo dosaženo výtěžku 83 %. Látka **8** v deprotonovaném stavu se osvědčila při následujících reakcích prováděných v bezvodém prostředí.

Syntéza 4,11-dimethyl-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekanu (**6**)

Syntéza látky **6** byla provedena podle postupu uvedeném v literatuře³⁴.



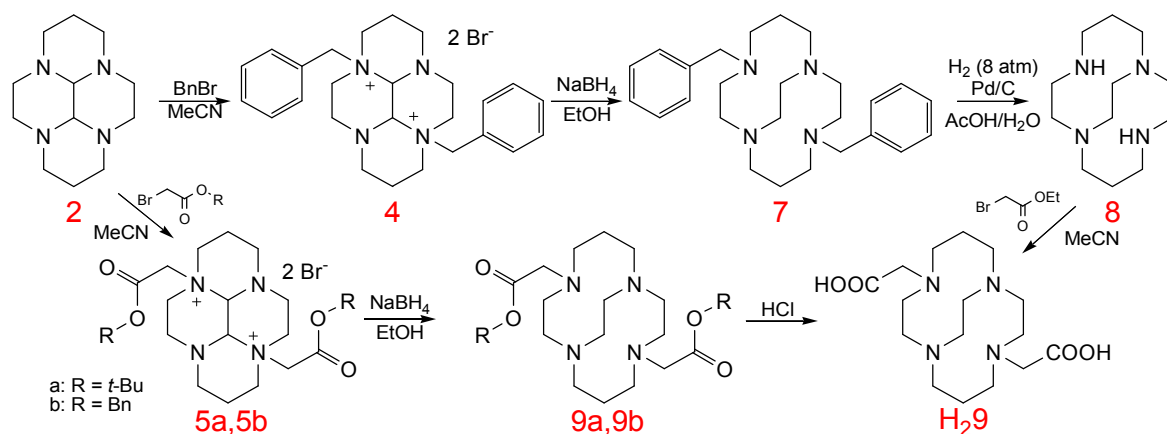
Látka **6** byla připravena sledem dvou reakcí, v prvním kroku byla připravena pyreniová sůl, která byla v druhém kroku zredukována za vzniku požadované látky.

Alkylace látky **2** byla prováděna velkým nadbytkem methyljodidu, reakce je potřeba vzhledem k velké těkavosti alkylačního činidla provádět v dobře těsnící nádobě. Vzhledem k menší velikosti methylové skupiny oproti skupině benzylové probíhá tato reakce za pokojové teploty daleko rychleji, téměř úplné konverze je dosaženo po 3 dnech. Produkt z reakční směsi krystalizuje ve formě bílých krystalků, po jejich vyseparování je vhodné jejich přečištění rekrystalizací z horkého methanolu. Nízký výtěžek 55 % je pravděpodobně způsoben nemalým množstvím produktu rozpuštěného v matečném louhu po rekrystalizaci.

Redukce látky **3** probíhá stejným způsobem jako u látky **7**. Rozpouštědlem je v tomto případě čistý ethanol. Následnou extrakcí produktu z bazického vodného roztoku byla nažloutlá viskózní kapalina, která byla přečištěna a deprotonována destilací z peciček hydroxidu za vysokého vakua na kugelrohu. Produktem byla bezbarvá viskózní kapalina. Produkt je nutné skladovat v dobře uzavřené baňce pod atmosférou argonu, za přístupu vzduchu je vidět zřetelný rozklad látky. Výtěžek této části syntézy byl 69 %.

Syntéza 4,11-bis(karboxymethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekanu (H₂9)

Syntéza této látky vycházející z látky **8** je popsána v literatuře³⁶. Vzhledem k velkému počtu reakčních kroků byla navržena alternativní cesta vycházející přímo z látky **2**. Z důvodu menšího počtu mezikroků se dá očekávat větší výtěžnost celé posloupnosti.



Syntéza vycházející z látky **8** probíhá ve dvou krocích, v prvním kroku dochází k alkylationi iminoskupin ethylbromacetátem za přítomnosti bezvodého uhličitanu sodného, který neutralizuje vznikající bromovodík a posouvá tak reakci ve prospěch produktu, kterým je dvojnásobný ethyl- ester látky **H₂9**. V následujícím kroku tento meziprodukt hydrolyzován varem s kyselinou chlorovodíkovou za vzniku volné kyseliny **H₂9**. Produkt je pak izolován pomocí silného aniontového iontoměniče. Výtěžek činí 68%, další podíl produktu by se dal vyseparovat z matečného louhu po rekrystalizaci.

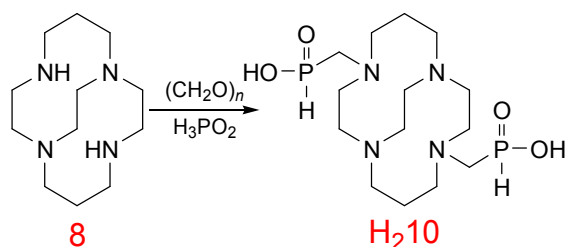
Alternativní způsob přípravy látky vycházející z látky **2** by zjednodušil a zrychlil přípravu látky **H₂9**, neboť „obchází“ časově náročnou alkylaci při které vzniká látka **4** a následně poměrně složitou přípravu látky **8**. Prvním krokem této syntézy je alkylace látky **2** pomocí *tert*-butylbromacetátu nebo benzylbromacetátu. Vzniklá pyreniová sůl by se pak zpracovala postupem obdobným jako v případě látky **4**, tedy redukcí natriumborohydridem v ethanolu. Vzniklý produkt **9a** (**9b**) je pak analogem meziproduktu při přípravě látky **H₂9** z látky **8**. Látka **H₂9** by pak byla připravena stejně, tedy hydrolyzou esterů ve zředěné kyselině chlorovodíkové.

Syntézu látek **5a** a **5b** je potřeba provádět v bezvodém prostředí, proto byla jako reakční nádoba zvolena zatavená skleněná ampule. Jako rozpouštědlo byl použit bezvodý acetonitril. Při přípravě látky **5a** došlo po asi 3 dnech v reakční nádobě k vysrážení pevné látky, tato látka

se ale asi po týdnu rozpustila za vzniku čirého roztoku. Po měsíci byly reakční nádoby otevřeny a obsah analyzován pomocí MS. Ze spekter bylo vyčteno, že v obou případech došlo pouze k částečnému naalkylování látky **2**, reakční směs byla směsí jednou naalkylované a dvakrát naalkylované pyreniové soli. Vzhledem k předpokládané náročnosti separace produktů nebyly produkty dále zpracovávány.

Syntéza 4,11-bis(hydroxyfosfinoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexadekan (**H₂10**)

Látka **H₂10** byla připravena upravenou Mannichovou reakcí. Místo látky obsahující aktivní C-H vazbu byla použita kyselina fosforová.

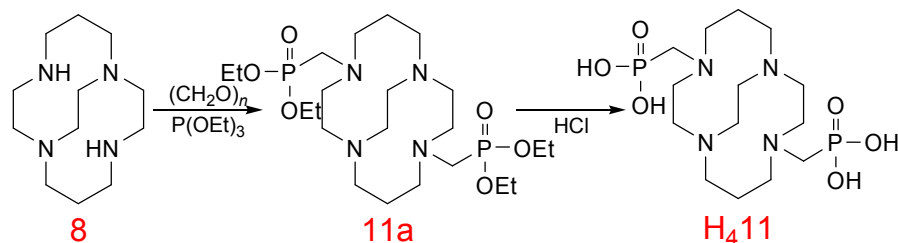


Výchozím bodem pro syntézu látky **H₂10** byl postup uvedený v literatuře³⁶.

Oproti původnímu postupu nebyla při přípravě látky **H₂10** použita jako rozpouštědlo zředěná kyselina chlorovodíková, reakce probíhala v nadbytku 50% roztoku kyseliny fosforové. Ukázalo se, že tato změna vede ke vzniku menšího množství vedlejších produktů. Reakce byla prováděna při teplotě 30°C, k vymizení signálu výchozí látky došlo podle MS po asi 12 hodinách. Separace produktu probíhá pomocí iontoměníčů, nejprve se pomocí silného kationtového iontoměníče ze směsi oddělí kyselina fosforová a vedlejší produkty nekationtové povahy, čištění produktu pak probíhá pomocí chromatografie na slabém kationtovém iontoměníči. Produktem je na rozdíl od předchozí verze pevná látka ve formě bezbarvých destičkovitých krystalů. Bohužel se kvůli separacím snížil výtěžek na 37 %. V okamžiku, kdy se reakce provede s větším množstvím vstupních látek, lze předpokládat, že by výtěžek mohl vzrůst.

Syntéza 4,11-bis(dihydroxyfosfonoylmethyl)-1,4,8,11-tetraaza[6.6.2]hexa-dekanu (H₄11)

Látka 11a byla připravena z látky 8 dvojkrokovou syntézou. Prvním krokem je modifikovaná Kabachnikova-Fieldsova reakce, jejímž produktem byl ester – látka 11a, krokem následným je hydrolýza esteru 11a za vzniku volné kyseliny H₄11.



Prvním krokem syntézy je reakce látky 8 s paraformaldehydem s triethylfosfitem, kde triethylfosfit funguje jako rozpouštědlo, reakce probíhá při teplotě 50 °C. U této reakce se ukázalo důležité vycházet z bezvodé látky 8, při použití hydrátu, který má v kavitě nakoordinovaný proton, reakce neprobíhá uspokojivě. Konverze reakce byla sledována pomocí MS, reakce byla ukončena v okamžiku vymizení signálu výchozí látky a meziproductu, kterým je jednou alkylovaný makrocyklus. Pro separaci látky 11a byl nejprve použit silný kationtový iontoměnič, na který se látka 11a navázala a následně uvolnila pomocí NH₃, ale daleko elegantnější metodou se ukázala extrakce produktu ze silně bazického vodného roztoku po odpaření přebytečného triethylfosfitu za hlubokého vakua. Produkt byl získán ve formě žluté voskovité látky. Látka nebyla dále čištěna a byla použita jako vstupní chemikálie pro následující krok.

V literatuře³⁷ je publikován alternativní způsob syntézy látky 11a, syntéza probíhá v bezvodém THF. Tato reakce se ale nepodařila reprodukovat.

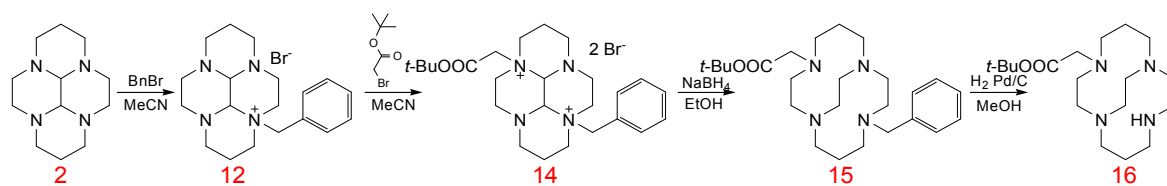
Druhým krokem syntézy látky H₄11 je hydrolýza ester 11a. Postup je popsán v literatuře³⁷. Hydrolýza probíhá varem ve zředěné kyselině chlorovodíkové. Konverze byla sledována pomocí MS, reakce byla ukončena po dvou dnech, kdy došlo k vymizení signálů výchozí látky a meziproductů, kterými je jednou až třikrát esterifikovaná látka H₄11. Reakční směs byla pak několikrát odpařena na RVO s vodou dosucha, aby došlo k co nejdokonalejšímu zbavení se HCl ze surového produktu. Produkt byl následně čištěn pomocí iontoměničů, nejprve pomocí silného kationtového iontoměniče, který pomohl odstranit látky nekationtové povahy.

Produkt byl z tohoto iontoměníče uvolněn pomocí vodného roztoku pyridinu. Následovala chromatografie na slabém kationtovém iontoměníči, produkt ale z iontoměníče vytekl spolu s částí nečistot v prvních frakcích. Po odpaření frakcí obsahujících produkt, byl produkt získán ve formě nažloutlého viskózního oleje. Ten začal po několikadenním stání částečně krystalizovat. Podle MS a NMR ale produkt není dokonale čistý, jeho čistota podle ^{31}P NMR dosahuje jen asi 90 %. Z tohoto důvodu nebyl tento ligand použit pro přípravu komplexů s Mn^{2+} a jejich následné studium. Pro lepší vyčištění produktu bude nutné opakovat chromatografii na slabém kationtovém iontoměníči, použít delší kolonu a jímat menší frakce.

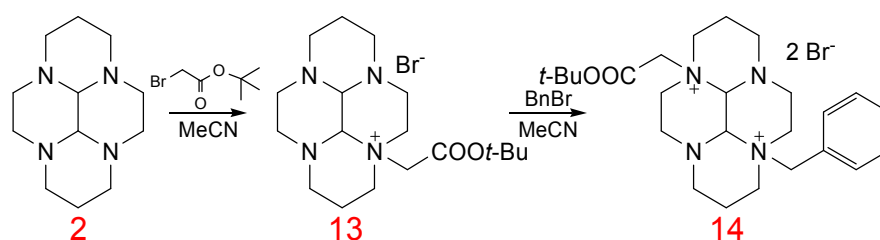
Syntéza asymetrických ligandů

Pro syntézu látky **16** byly v literatuře publikovány dva přístupy. Prvním přístupem je syntéza vycházející z látky **8**, kdy syntéza probíhá obdobně jako v případě syntézy látky **9**, ale do reakce se nedává nadbytek alkylačního činidla. Produktem je pak směs látek **8**, *t*-butylesteru látky **9** a látky **16**. Separace těchto látek se pak provádí pomocí flash-chromatografie. Výtěžek této syntézy je nízký (39 %) ⁴⁴.

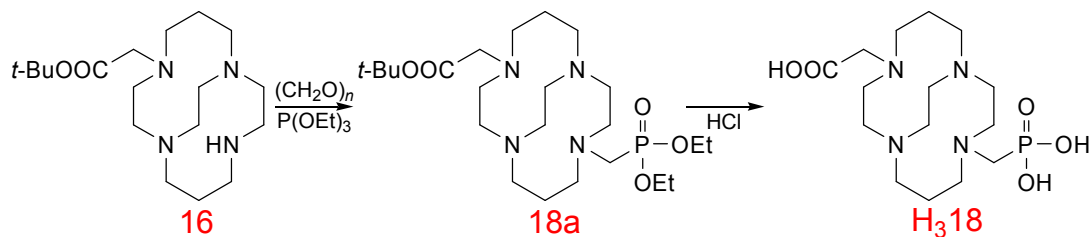
Druhým přístupem k syntéze látky **16** je posloupnost reakcí vycházející z látky **2**. Tato látka je ve dvou krocích naalkylována *t*-butylbromacetátem a benzylbromidem za vzniku látky **14**. Ta je následně zpracovávána podobně jako látka **4** při syntéze látky **8**. Prvním krokem je redukce pyreniové soli **14**, kdy dojde ke vzniku přemostění v molekule cyklamu. Následuje hydrogenační odbourání benzylové skupiny za vzniku látky **16**. Celý tento postup je publikován v literatuře ^{38,39}.



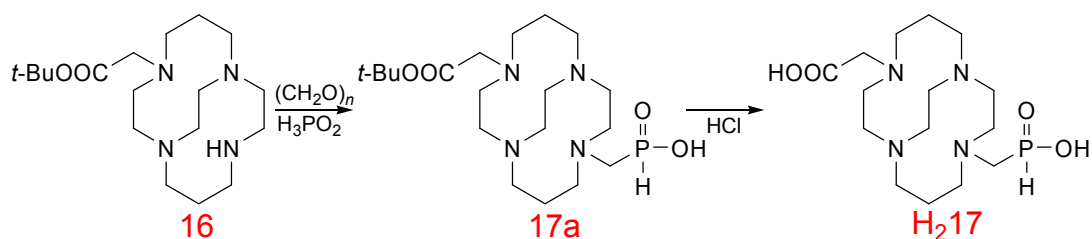
Jako druhá varianta této syntézy byla navržena možnost opačné alkylace látky **2**, nejprve *tert*-butylbromacetátem a následně benzylbromidem.



Syntéza látky **16** přímo z látky **13** prostým zredukováním pomocí NaBH_4 není možná, absence objemné benzylové skupiny v „*trans*“ (**8a**) poloze vede ke vzniku tzv. side-bridged cyklu.³⁶



Látka **16** má ve své struktuře jeden sekundární dusík, na tento dusík lze vhodným sledem reakcí navázat druhou pendantní skupinu. V případě methylfosfonátové funkční skupiny (látka **H₃18**) je syntéza obdobná jako v případě syntézy látky **H₄10** tedy Kabachnikovou-Fieldsovou reakcí s paraformaldehydem a triethylfosfitem. Následujícím krokem je deesterifikace kyselých skupin látky **18a** varem ve zředěném chlorovodíku. Postup je popsán v literatuře³⁷.



Druhou možností je navázání methylfosfinátové skupiny na sekundární uhlík látky **16**. Tato syntéza by byla provedena upravenou Mannichovou reakcí látky **16** s paraformaldehydem v přítomnosti kyseliny fosforné. Následná deesterifikace *tert*-butylové skupiny látky **17a** by byla provedena varem ve zředěném chlorovodíku, případně pomocí trimethylsilyl bromidu.

Syntéza látky **12** byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře³⁸.

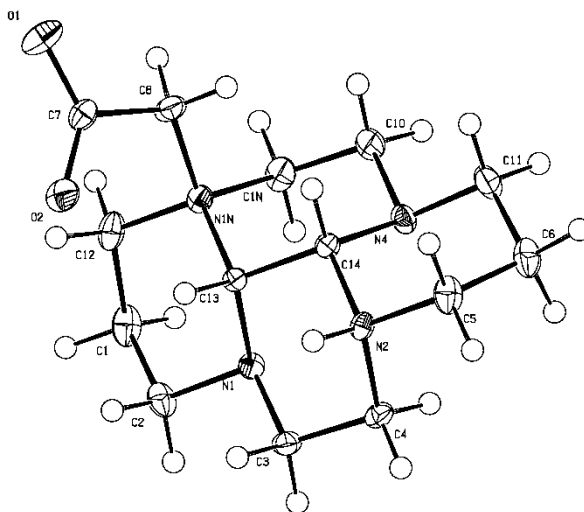
Příprava látky **12** je obdobná jako příprava látky **4**, již je meziproductem. Při syntéze se používá relativně malý nadbytek alkylačního činidla (2-3 ekv.), alkylaci do druhého stupně se také zabraňuje ukončením reakce po dvou hodinách. Během této doby dojde k vysrážení produktu z reakční směsi. Aby byla směs filtrovatelná, bylo nutné reakční směs před filtrací naředit Et_2O . Výtěžek této reakce byl 92 %.

Následná alkylace *tert*-butylbromacetátem byla prováděna podle upraveného postupu uvedeného v literatuře³⁹. (V publikovaném postupu jsou zjevné nesrovnalosti ohledně látek

vstupujících do reakce.) Reakce byla prováděna v bezvodém acetonitrilu, byla ponechána míchat při laboratorní teplotě jeden měsíc. Během této doby byla konverze kontrolována pomocí MS. Oproti údajům uvedeným v původním návodu, nebyla pozorována téměř žádná konverze. Reakční směs tedy nebyla dále zpracovávána.

Syntéza látky **13** byla prováděna obdobným způsobem (prostředí, koncentrace) jako příprava látky **12**. Reakční směs byla ponechána míchat v uzavřené baňce 3 dny, následně byla odpařena rozpouštědla a látka byla přechištěna odextrahováním hydrofóbních látek pomocí Et₂O. Produkt byl získán ve formě bezbarvých jehličkovitých krystalků. Výtěžek reakce činil 92 %. Pomalou difúzí Et₂O do ethanolického roztoku látky **13** došlo ke vzniku krystalů vhodných pro rentgenostrukturní analýzu. Ta ale ukázala, že pravděpodobně dlouhým stáním látky **13** v ethanolickém roztoku došlo k její deesterifikaci. Struktura vzniklé látky a její krystalografická data jsou na obrázku 6.1.

Obrázek 6.1 Struktura látky (2-CH₂COOH)Br·2,5H₂O; teplotní elipsoidy jsou vykresleny s 50% pravděpodobností



Krystalografická data: (2-CH₂COOH)Br·2,5H₂O, monoklinická, $a = 10,7526 \text{ \AA}$, $b = 9,9682 \text{ \AA}$, $c = 16,9956 \text{ \AA}$, $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 107,056^\circ$, $\gamma = 90^\circ$, grupa $P2_1/c$

Syntéza látky **14** z látky **13** byla provedena obdobně jako syntéza látky **14** z látky **12**. Reakce byla prováděna v bezvodém acetonitrilu v dobře těsnící baňce. Reakční směs byla ponechána míchat měsíc, během této doby byla konverze kontrolována pomocí MS. Oproti očekávání nedocházelo v reakční směsi k téměř žádné konverzi. Reakční směs proto nebyla dále zpracovávána.

Negativní výsledek prováděných experimentů je pravděpodobně způsoben nedostatečným vysušením látek vstupujících do reakce. Konverze reakcí by mohla být podpořena použitím ultrazvuku nebo mikrovln.

Syntéza Mn^{2+} komplexů, jejich redoxní vlastnosti a relaxivita

Příprava komplexů dvojmocného manganu s připravenými ligandy byla prováděna v bezvodém a bezkyslíkatém prostředí. Atomy dusíku v cross-bridged cyklamů se chovají jako velice silná protonová houba. Například látka **6** se ve vodném prostředí vyskytuje ve své dvakrát protonizované formě, která se chová, jako slabá jednosytná kyselina s $\text{p}K_{\text{a}1} = 9,58(3)$, z tohoto je vidět, že $\text{p}K_{\text{a}2}$ musí být větší než 13.⁴⁵ Na rozdíl od Cu^{2+} nebo Zn^{2+} s nimiž tvoří ligandy odvozené od cross-bridged cyklamů velice silné komplexy, které vznikají i ve vodném prostředí, tvrdý manganatý ion (podobně jako ion železnatý) není dostatečným konkurentem protonu koordinovanému v kavitě ligandu⁴⁶. Z tohoto důvodu je nutné pracovat v bezvodém prostředí s pokud možno deprotonizovanými ligandy. Důvodem nutnosti práce s bezkyslíkatými chemikáliemi je ten, že koordinací skeletu cross-bridged cyklamů na mangan se velmi sníží redoxní potenciál přechodu $2+/3+$ a některé připravené komplexy jsou schopné se oxidovat vzdušným kyslíkem za vzniku manganitých komplexů.

Příprava MnCl_2 a $[\text{Mn}(\text{py})_2\text{Cl}_2]$

Jako zdroj manganatého iontu byl použit bezvodý chlorid manganatý nebo dichlorido-bis(pyridin)manganatý komplex.

Bezvodý chlorid manganatý byl připraven postupem, kterým se připravují bezvodé chloridy lanthanoidů, tetrahydrát chloridu manganatého byl nejdříve sušen v sušárně vyhřáté na teplotu $120\text{ }^\circ\text{C}$, následně byl vařen pod zpětným chladičem pod atmosférou argonu v thionylchloridu. Výhodou této reakce je, že bezvodý chlorid manganatý je jediný pevný produkt. Nezreagovaný thionylchlorid byl po skončení reakce odpařen a zneutralizován v roztoku hydroxidu. Vzhledem k hygroskopické povaze produktu, byl připravený chlorid manganatý uchováván pod atmosférou argonu. Reakce byla kvantitativní.

Dichlorido-bis(pyridin)manganatý komplex byl připraven podle postupu uvedeného v literatuře⁴⁰. Do nasyceného roztoku tetrahydrátu chloridu manganatého bylo přilito ekvimolární množství pyridinu a vyloučený produkt byl odfiltrován a vysušen ve vakuu. Tento

komplex je na vzduchu stálý a nehydrolyzuje, ale vzhledem k jeho dalšímu použití byl také uchováván v uzavřené baňce pod atmosférou argonu. Výtěžek činil 78 %.

[Mn(6)Cl₂]

Syntéza byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře^{42,45}.

Příprava byla provedena ve skleněné ampulce, do které bylo kromě [Mn(py)₂Cl₂] a ligandu přidáno ještě trochu hydroxylaminu, aby se uvnitř ampulky drželo redukční prostředí a komplex neměl tendenci se oxidovat. Jako rozpouštědlo byl použit komerční bezvodý bezkyslíkatý acetonitril. Ampulka byla napuštěna argonem a zatavena. Reakční směs byla ponechána týden reagovat, po týdnu byla opatrně otevřena, obsah byl rychle přenesen do baňky s argonovou atmosférou. Roztok byl přefiltrován a filtrát byl ponechán odpařovat do vakua. Produktem byla nažloutlá pevná látka.

Podle fyzikálně-chemického chování je patrné, že se nejedná o čistou látku, pravděpodobně jde o směs ligandu a čistého komplexu.

Spektrum MS obsahovalo píky odpovídající komplexu.

Cyklická voltametrie v acetonitrilu ukazuje jeden reverzibilní pík odpovídající přechodu 2+/3+ a jeden kvazireverzibilní pík, který může odpovídat přechodu 3+/4+ nebo také volnému manganu. Hodnoty redoxních potenciálů jsou blízké hodnotám uvedeným v literatuře.

Cyklická voltametrie ve vodě ukázala, dva reverzibilní píky odpovídající přechodům 2+/3+ a 3+/4+. Potenciály těchto signálů neodpovídají potenciálům naměřeným v acetonitrilu, toto je pravděpodobně způsobeno výměnou atomů chloru v molekule komplexu za molekuly vody. Při měření CV při různých hodnotách pH ukázalo, že při hodnotě pH vyšší než 3 se v cyklovoltamogramu objevují neidentifikované „boule“. Ty jsou pravděpodobně způsobeny vznikem různých hydroxokomplexů, které mají redoxní potenciály podobné jako původní komplex.

Měření relaxivit ukázalo, že se v připravené látce nevyskytuje mangan jako volný ion. Také se ukázalo, že v připravené látce je méně manganu, než by tam mělo být přítomno. Z toho bylo usouzeno na to, že je připravený komplex znečištěn volným ligandem. Relaxivita komplexu po přepočtení na množství manganu je uvedena v tabulce 6.3. Naměřená hodnota ukazuje, že by připravený komplex měl mít dvě vyměnitelné molekuly vody.

[Mn(7)Cl₂]

Syntéza komplexu byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře⁴¹.

Syntéza byla provedena ve skleněné ampulce, do ampulky byly naváženy pevné reaktanty, ampulka byla pomocí septa a injekční jehly napojena na argon-vakuovou linku a evakuována. Evakuovaná ampulka byla opatrně ohřívána horkovzdušnou pistolí, tak aby nedošlo k rozkladu reaktantů, ale došlo k uvolnění vlhkosti z povrchu skla. Ampulka byla následně vysekurována. Do ampulky byla přilita rozpouštědla pomocí injekčních stříkaček a ampulka byla zatavena. Reakční směs byla ponechána míchat týden, během té doby došlo v ampulce k vysrážení velkého množství bílé sraženiny. Ampulka byla otevřena a obsah byl rychle převeden do baňky s atmosférou argonu. Pevná látka byla odfiltrována a usušena ve vakuu.

Elementární analýza získané látky ukázala, že se nejedná o čistý produkt, Podle poměru množství uhlíku a dusíku je ale vidět, že zde žádná jiná organická molekula kromě ligandu nevyskytuje. Elementární analýza ukázala, že látka obsahuje víc organických prvků, než by měl být čistý komplex, bylo usouzeno, že produktem reakce je směs komplexu a volného ligandu.

Cyklická voltametrie produktu v acetonitrilu ukázala jeden reverzibilní pík náležející přechodu 2+/3+ a jeden kvazireverzibilní pík náležející přechodu 3+/4+. Hodnota vypočteného redoxního potenciálu je uvedena v tabulce 6.1, tato hodnota se mírně liší od hodnoty uvedené v literatuře, rozdíl by mohl být způsoben rozdílným rozpouštědlem, ve kterém bylo provedeno měření cyklické voltametrie (DMF vs. MeCN).

Cyklická voltametrie ve vodném prostředí narazila na nerozpustnost této látky ve vodě, resp. ukázalo se, že při rozpouštění ve vodě došlo k hydrolýze komplexu, na voltamogramu byl pozorován pouze jeden reverzibilní přechod odpovídající volnému manganu (viz tabulka 6.2)

Relaxometrické měření prováděno nebylo z důvodu nerozpustnosti produktu ve vodě.

[Mn(8)Cl₂]

Syntéza byla provedena podle postupu uvedeného v literatuře⁴¹.

Syntéza byla prováděna s čerstvě predestilovaným ligandem, jako zdroj manganu pro tuto reakci slouží bezvodý chlorid manganatý. Jako rozpouštědlo byl použit komerční bezvodý bezkyslíkatý DMF. Všechny operace byly prováděny na argon-vakuové lince ve schlenkovských baňkách, které byly před použitím vyžihány za vakua a vysekurovány.

Po smíchání všech reagensů byla reakční směs ponechána míchat pod atmosférou argonu přes noc. Během této doby došlo v reakční směsi k vysrážení bílé sraženiny. Tato sraženina byla odfiltrována na schlenkovské fritě a vysušena ve vakuu. Produktem byla bílá pevná látka.

Elementární analýza se dobře shoduje s vypočteným složením.

Cyklická voltametrie v acetonitrilu ukazuje dva reverzibilní píky odpovídající přechodům $2+/3+$ a $3+/4+$. První jmenovaný dobře koresponduje s údaji uvedenými v literatuře, rozdíl může být způsoben jiným rozpouštědlem, ve kterém bylo měření provedeno (DMF vs. MeCN).

Cyklická voltametrie ve vodném prostředí ukázala zajímavý fenomén, kdy při pH 3 byly pozorovány dva reverzibilní píky odpovídající přechodům $2+/3+$ a $3+/4+$. Potenciály těchto signálů neodpovídají potenciálům naměřeným v acetonitrilu. Toto může být způsobeno tím, že v acetonitrilu bude přítomna částice $[\text{Mn(8)Cl}_2]$, kdežto ve vodě budou atomy chloru nahrazeny molekulami vody. Při pH vyšším než 3 byl naměřený voltamogram zcela odlišný, objevili se zde různé neidentifikované signály (viz grafy 9. 10 a 9.14). Toto chování by mohlo být způsobeno tím, že už při kyselém pH dochází v roztoku ke vzniku různých hydroxokomplexů. Ty jsou mezi sebou v rovnováze, ale tím, že mají každý poněkud jiný redoxní potenciál, dojde k rozmytí signálu.

Vzhledem k nízkému redoxnímu potenciálu dochází při kontaktu roztoku komplexu se vzdušným kyslíkem k rychlé oxidaci, která je doprovázena změnou barvy na sytě červenou. Této redoxní nestability by mohlo být využito při použití tohoto komplexu jako „chytré“ kontrastní látky, která by svojí relaxivitou měnila v závislosti na množství kyslíku přítomného v dané tkáni.

Relaxometrické měření ukázalo, že hodnoty relaxivity tohoto komplexu jsou okolo hodnoty $2,65 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$, což odpovídá dvěma molekulám vody koordinovaným na centrální atom.

[Mn(9)]

Syntéza byla provedena za nepřístupu vzduchu na argon-vakuové lince. Do baňky byly naváženy pevné reagensy a baňka byla vysekurována. Následně byl do baňky přes septum přidán suchý bezkyslíkatý acetonitril. Reakční směs byla ponechána míchat pod atmosférou

argonu 2 dny, během této doby došlo ve směsi k vysrážení bílé látky. Tato látka byla odfiltrována na schlenkovské fritě, promyta MeCN a vysušena ve vakuu.

Podle MS byl v připravené látce chtěný produkt. Kromě píku odpovídajícího komplexu se ve spektru nacházel i pík ligandu.

Podle výsledků elementární analýzy je v látce přítomno méně anorganické složky než by mělo být podle vypočteného složení. Poměr počtu molů uhlíku a dusíku je stejný jako u samotného ligandu. Naměřené hodnoty 39,70 % C; 6,03 % H; 11,12 % N se blíží látce o složení $\text{H}_2\mathbf{9} \cdot \text{MnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (vypočteno 39,51 % C; 6,63 % H; 11,52 % N).

Měření relaxivit ukázalo, že roztok produktu ve vodě má stejnou relaxivitu jako volný manganatý ion.

Cyklická voltametrie v acetonitrilu ukázala pouze pík volného manganu. Cyklická voltametrie ve vodě ukázala jeden reverzibilní pík neidentifikované částice.

Z naměřených dat vyplývá, že připravená bílá pevná látka pravděpodobně není komplexem $[\text{Mn}(\mathbf{9})]$. S největší pravděpodobností došlo pouze k tomu, že z reakční směsi vykryštoval adukt chloridu manganatého s připraveným ligandem.

Toto se mohlo stát z toho důvodu, že ligand, ze kterého reakce vycházela, obsahoval ve své kavitě proton, který nemohl být nahrazen manganatým iontem. Komplexace bude muset být provedena s přidavkem takové látky, která je schopná ligandu odejmout proton, sází silnější než je ligand. Neidentifikovaný signál na cyklovoltamogramu ve vodě by mohl být komplex manganu s ligandem $\text{H}_2\mathbf{9}$ takový, že je ligand na kov koordinován pouze karboxylovou skupinou.

[Mn(10)]

Reakce byla provedena ve skleněné ampuli, která byla nejdříve vyžihána nad horkovzdušnou pistolí. Do ampule byly naváženy všechny pevné reagenty a ampule byla uzavřena septem a připojena pomocí injekční jehly k argon-vakuové lince. Ampule byla vysekurována a byl do ní přidán bezvodý bezkyslíkatý acetonitril. Reakční směs byla ponechána míchat týden, během této doby došlo k vysrážení bílé sraženiny. Ampule byla rychle otevřena a obsah převeden do baňky napuštěné argonovou atmosférou. Pevná látka byla odfiltrována na schlenkovské fritě, promyta acetonitrem a usušena ve vakuu.

Podle MS není v připravené látce ani známka očekávaného produktu.

Cyklická voltametrie v acetonitrilu ukázala pouze pík volného manganu, cyklická voltametrie ve vodě taktéž.

Z výsledků relaxačních měření je patrné, že připravená látka má stejnou relaxivitu jako volný mangan.

Elementární analýza ukazuje, že látka obsahuje méně organické složky, než by mělo být podle vypočteného složení. Naměřené složení 38,19 % C; 7,21 % H; 15,3 % N se nejvíce blíží látce ($10^{2-} \cdot \text{Mn}^{2+} \cdot 2\text{MeCN} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), která má vypočtené složení 39,06 % C; 7,29 % H; 15,19 % N.

Obdobně jako v předchozím případě nedošlo při reakci ke vzniku předpokládaného produktu, ale ke vzniku aduktu ligandu $\text{H}_2\mathbf{10}$ s manganatým iontem, acetonitrilem a vodou.

Komplexace manganatého iontu bude muset být provedena v striktně bezvodých podmínkách za přítomnosti silné báze, která bude schopna ligand deprotonovat.

Měření redoxních vlastností komplexů

Měření bylo prováděno v bezvodém prostředí (acetonitril) a ve vodě. Měření cyklické voltametrie bylo prováděno rychlosti změny potenciálu 100 mVs^{-1} . Z naměřených voltamogramů byly odečteny hodnoty oxidačních píků E_a a redukčních píků E_c (viz tabulky 6.1 a 6.2). Z těchto hodnot byly vypočteny redoxní potenciály E a separace píků ΔE . Naměřené cyklovoltamogramy jsou k nahlédnutí v příloze této práce.

Tabulka 6.1 Naměřené potenciály komplexů (vs. SHE), měření v MeCN

Látka	Přechod	E_a (V)	E_c (V)	E (V)	ΔE (mV)
MnCl_2	2+/4+	1,201	1,110	1,155	91
[Mn(6)Cl ₂]	2+/3+	0,647	0,536	0,591 ^a	111
	3+/4+	1,392	1,100	1,246 ^b	292
[Mn(7)Cl ₂]	2+/3+	0,677	0,617	0,647 ^c	60
	3+/4+	1,150	0,768	0,959	383
[Mn(8)Cl ₂]	2+/3+	0,385	0,294	0,340 ^d	91
	3+/4+	1,231	1,130	0,959	383
[Mn(9)]	2+/3+	1,130	1,040	1,085	91
[Mn(10)]	2+/3+	1,100	0,768	0,934	332

^a $E = 0,585 \text{ V}$; $\Delta E = 61 \text{ mV}$ (MeCN); ^b $E = 1,343 \text{ V}$; $\Delta E = 65 \text{ mV}$ (MeCN);

^c $E = 0,577 \text{ V}$; $\Delta E = 72 \text{ mV}$ (DMF); ^d $E = 0,239 \text{ V}$; $\Delta E = 79 \text{ mV}$ (DMF) vše podle lit.⁴¹

Tabulka 6.2 Naměřené potenciály komplexů (vs. SHE), měření ve vodě

Látka	Přechod	E_a (V)	E_c (V)	E (V)	ΔE (mV)
MnCl ₂	2+/4+	1,144	1,018	1,081	126
[Mn(6)Cl ₂]	2+/3+	0,841	0,716	0,779	126
	3+/4+	1,118	1,063	1,091	55
[Mn(7)Cl ₂]	2+/3+	1,134	0,937	1,035	196
[Mn(8)Cl ₂]	2+/3+	0,645	0,559	0,602	86
	3+/4+	1,013	0,962	0,987	50
[Mn(9)]	2+/3+	0,610	0,212	0,411	398
	3+/4+	1,350	1,008	1,179	342
[Mn(10)]	2+/4+	1,275	1,063	1,169	211

Poměrně velké hodnoty separace píků je způsobena vysokou rychlostí skenu. Naměřené hodnoty přechodů v acetonitrilu jsou v souladu s hodnotami uvedenými v literatuře.

V případě, že je v roztoku přítomen komplex manganu s ligandem, jsou pozorovány píky v oblasti od 0,3 do 0,8 V vs. SHE. Píky okolo hodnoty 1,2 V odpovídají oxidaci manganu na mangan čtyřmocný. Pokud je komplex ligandu s čtyřmocným manganem dostatečně stálý, je tento pík reverzibilní a má poměrně malou separaci. V případě, že je pozorována separace píků velká a píky jsou ireverzibilní, dochází pravděpodobně k vzniku MnO₂.

Stanovení stability komplexů pomocí cyklické voltametrie

Stanovení stability komplexů pomocí cyklické voltametrie vychází z předpokladu, že velikost píku je při stejné skenovací rychlosti pro stejnou látku přímo úměrná její koncentraci. Uspořádání experimentu bylo takové, že v elektrochemické cele byl pufr o určitém pH a v něm byl rozpuštěn zkoumaný komplex. Každé dvě minuty proběhlo jedno měření cyklické voltametrie. Z nasbíraných dat byly odečteny velikosti jednotlivých píků v určitém čase. V případě rozkladu látky podle kinetické rovnice prvního řádu by měla výška píku náležejícího rozpadající se látce exponenciálně klesat. Tato metoda bohužel narazila na nepřesnosti v odečtu výšky píku. Pozorované změny byly na hraně přesnosti daného měření. Navíc se při měření při pH 5 a 7 objevil problém s vymizením píku z důvodu rovnováhy různě protonizovaných komplexů (viz předchozí text). Data se tedy ukázala jako nereprodukovatelná.

Měření relaxivit komplexů

Relaxivita komplexů byla měřena při poli 7,05 T (300 MHz). Hodnota relaxivity volného manganatého iontu byla určena na $6,24 \pm 0,05 \text{ mM}^{-1}\text{s}^{-1}$.

Vzhledem k nejasnému složení některých komplexů byla pomocí relaxačních časů stanovována jejich koncentrace ve vzorku. Tento výpočet vychází z předpokladů, že veškerý mangan obsažený ve vzorku je ve formě komplexu, naměřená relaxivita tedy odpovídá pouze komplexu. Dalším předpokladem je, že po přidání dostatečného množství koncentrované kyseliny k roztoku vzorku, dojde k rozložení komplexu na volný manganatý ion a ligand. Vzhledem k neochotě ligandů komplexovat manganatý ion ve vodném prostředí, by měla tato podmínka být splněna. Relaxační časy naměřené po přidání kyseliny tedy vypovídají o množství manganatého iontu v roztoku. Ze znalosti relaxivity volného manganu při daném uspořádání experimentu je možné vypočítat jeho skutečnou koncentraci ve vzorku a tím pádem i koncentraci roztoku. Vypočítané koncentrace jsou uvedené v tabulce 6.3 stejně tak jako vypočtené relaxivity komplexů při daném pH.

Tabulka 6.3 Naměřené hodnoty koncentrace roztoků v kyvetách a naměřené hodnoty relaxivit

látko	<i>m</i> (mg)	pH	pufr	<i>c</i> (mM)	<i>r</i> ₁ (mM ⁻¹ s ⁻¹)
[Mn(6)Cl ₂]	3,6	3,00	MCA	3,2	3,26 ± 0,05
[Mn(6)Cl ₂]	3,3	4,74	AcOH	3,1	3,10 ± 0,05
[Mn(6)Cl ₂]	1,9	7,23	MES	2,2	3,10 ± 0,05
[Mn(8)Cl ₂]	3,0	3,00	MCA	19,4	2,63 ± 0,05
[Mn(8)Cl ₂]	2,4	4,74	AcOH	15,8	2,70 ± 0,07
[Mn(8)Cl ₂]	3,2	7,23	MES	19,8	2,61 ± 0,06
[Mn(9)]	1,8	5,24	AcOH	9,5	6,47 ± 0,08
[Mn(9)]	1,9	7,08	MES	7,7	6,1 ± 0,1
[Mn(10)]	3,1	2,96	MCA	18,0	6,48 ± 0,09
[Mn(10)]	2,7	4,99	AcOH	15,6	6,4 ± 0,1
[Mn(10)]	3,2	6,91	MES	18,7	6,4 ± 0,1
MnSO ₄		2,78	-	45,11	6,24 ± 0,05

Zároveň s měřením relaxivit jednotlivých komplexů bylo zjišťováno, jak se mění relaxivita komplexů [Mn(6)Cl₂] a [Mn(8)Cl₂] v čase. Roztoky komplexů v pufrch byly připraveny pod inertní atmosférou argonu v zatavených NMR kyvetách. V případě, že by roztoky v kyvetách mohly reagovat se vzdušným kyslíkem, docházelo by k oxidaci komplexů a tím i ke snižování relaxivity. Předpokládá se pomalý nárůst relaxivity z důvodu pomalého rozkladu komplexu,

kdy k celkové relaxivitě vzorku přispívá kromě samotného komplexu i volný manganatý ion vzniklý rozkladem komplexu. Byla provedena celkem 3 měření připravených vzorků a to ihned po přípravě, po jednom a dvou dnech. Naměřené relaxivity jsou uvedeny v tabulce 6.4 a vyneseny do grafů 6.1 a 6.2.

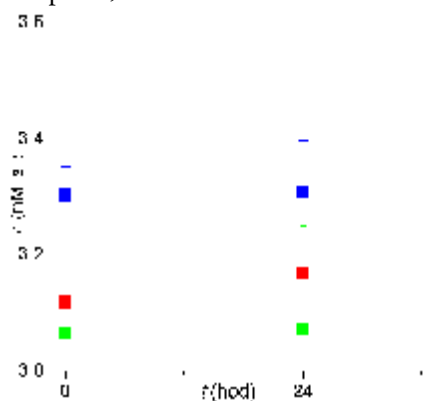
V případě komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ je patrné, že rozklad komplexu je rychlejší při nižších hodnotách pH. Při pH okolo 7 je rozklad téměř neznamatelný.

V případě komplexu $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ trend stejný jako v případě komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$.

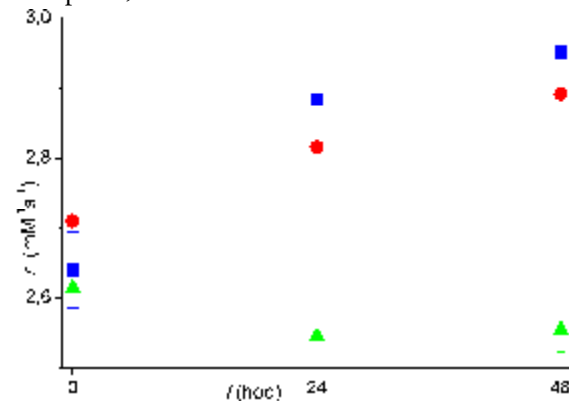
Tabulka 6.4. Naměřené hodnoty relaxivit v závislosti na čase

látk	c (mM)	pH	$t = 0$ h	$t = 24$ h	$t = 48$ h
			r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)	r_1 ($\text{mM}^{-1}\text{s}^{-1}$)
$[\text{Mn(6)Cl}_2]$	3,2	3,00	$3,31 \pm 0,05$	$3,31 \pm 0,09$	$3,46 \pm 0,09$
$[\text{Mn(6)Cl}_2]$	3,1	4,74	$3,12 \pm 0,05$	$3,17 \pm 0,09$	$3,30 \pm 0,09$
$[\text{Mn(6)Cl}_2]$	2,2	7,23	$3,07 \pm 0,05$	$3,1 \pm 0,2$	$3,06 \pm 0,02$
$[\text{Mn(8)Cl}_2]$	19,4	3,00	$2,64 \pm 0,05$	$2,88 \pm 0,04$	$2,95 \pm 0,05$
$[\text{Mn(8)Cl}_2]$	15,8	4,74	$2,71 \pm 0,07$	$2,82 \pm 0,04$	$2,89 \pm 0,05$
$[\text{Mn(8)Cl}_2]$	19,8	7,23	$2,61 \pm 0,06$	$2,54 \pm 0,04$	$2,55 \pm 0,03$

Graf 6.1 Závislost relaxivity komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ na čase ■ – pH 6,97 ■ – pH 4,95, ■ – pH 2,95



Graf 6.2 Závislost relaxivity komplexu $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ na čase ■ – pH 6,76 ■ – pH 4,93, ■ – pH 3,06



7 Závěr

V rámci této diplomové práce bylo nasyntetizováno celkem 6 symetrických ligandů odvozených od cross-bridged cyklamů. Dále byl navrhnut postup syntézy nesymetrických ligandů. Všechny tyto ligandy by měly tvořit velmi stabilní komplexy s dvojmocným manganem.

Byly nasyntetizovány celkem 3 komplexy dvojmocného manganu s připravenými ligandy. U ostatních připravených ligandů způsob komplexace selhal.

U připravených komplexů byly změřeny redoxní potenciály ve vodném a nevodném prostředí. Pomocí cyklické voltametrie bylo ukázáno, že připravené komplexy jsou stále i v kyselém prostředí.

U dvou připravených komplexů byla změřena relaxivita. Bylo zjištěno, že by se oba tyto komplexy daly použít jako „chytré“ kontrastní látky pro magnetickou rezonanční tomografii, jejich relaxivita by se měnila v závislosti na množství kyslíku ve tkáni.

Byla zjištěna až překvapivě velká kinetická inertnost komplexů manganu s ligandy, které neobsahují pendantní skupiny s koordinujícími se atomy. Naopak byla zjištěna kinetická labilita těchto hexadentátních ligandů.

Připravené látky budou dále studovány, budou optimalizovány některé kroky syntézy. Předpokládá se, že budou připraveny manganaté komplexy i od těch ligandů, které dosud komplexaci odolávaly.

8 Literatura

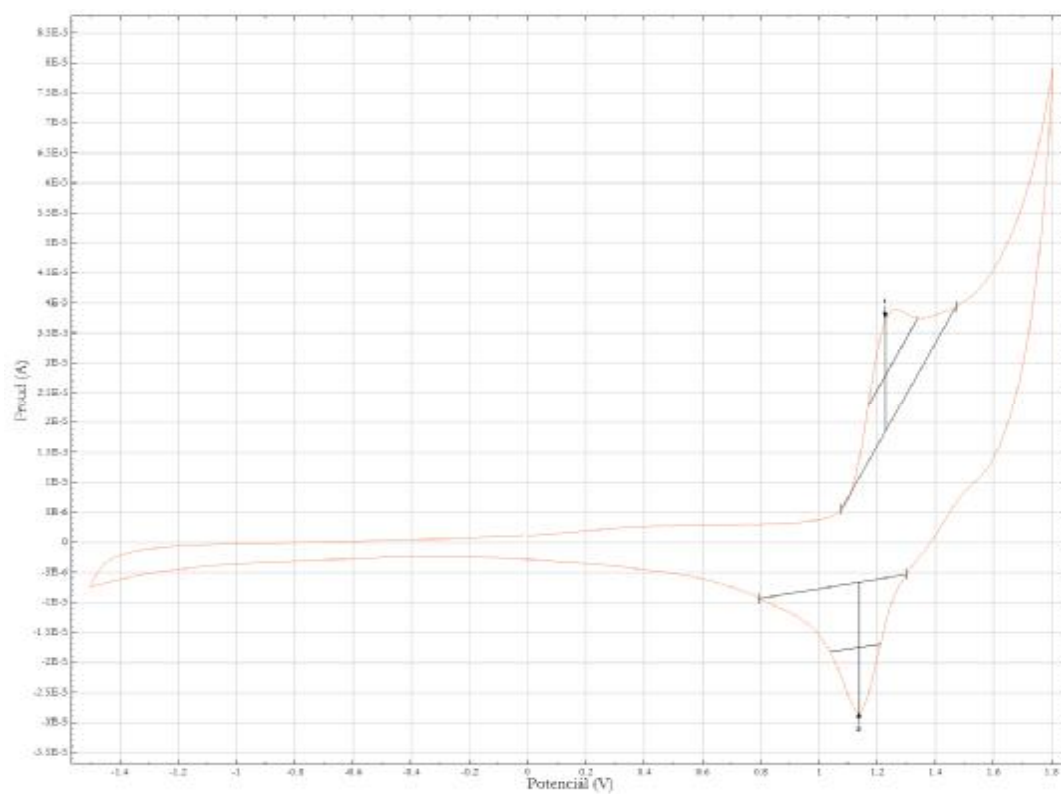
- ¹ R. Weissleder, U. Mahmood. *Radiology*, **2001**, 219, 316.
- ² P. C. Lauterbur. *Nature*, **1973**, 242, 190.
- ³ V. Kuperman, *Magnetic resonance imaging: physical principles and applications*, Academic Press, San Diego, **2000**.
- ⁴ P. Hermann, J. Kotek, V. Kubiček, I. Lukeš. *Dalton Trans.*, **2008**, 23, 3027.
- ⁵ N. N. Greenwood, A. Earnshaw. *Chemistry of the Elements*, 2nd edition, Elsevier, Oxford **1998**.
- ⁶ F. A. Cotton, G. Wilkinson, C. A. Murillo, M. Bochmann. *Advanced Inorganic Chemistry*, 6th edition. Wiley, New York **1999**.
- ⁷ A. F. Holleman, E. Wiberg. *Lehrbuch der anorganischen Chemie* 101. Auflage, deGruyter, Berlin, New York, **1995**.
- ⁸ A. C. Silva, J. H. Lee, I. Aoki, A. P. Koretsky. *NMR Biomed.*, **2004**, 17, 532.
- ⁹ D. D. Schwert, J. A. Davies, N. Richardson. *Top. Curr. Chem.*, **2002**, 221, 165.
- ¹⁰ J. Barral. *Manganese-Enhanced Magnetic Resonance Brain Imaging (MEMRI)*, **2006**, http://www.stanford.edu/~jbarral/Downloads/EE469A_Joelle_Barral.pdf, staženo 28. 2. 2011.
- ¹¹ D. C. Weatherburn, S. Mandal, S. Mukhopadhyay, S. Bhaduri, L. F. Lindoy. *Manganese in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ¹² B. Meunier. *Heme-peroxidases in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ¹³ A.-F. Miller. *Superoxide Processing in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ¹⁴ J. S. Vrettos, G. W. Brudvig. *Oxygen Evolution in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ¹⁵ V. J. Ferose, S. Burns, N.-K. Kim, M. Vogt. *DNA and RNA as Ligands in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ¹⁶ J. Cavanagh, W. J. Fairbrother, A. G. Palmer III, M. Rance, N. J. Skelton. *Protein NMR Spectroscopy*, 2nd edition, Elsevier Academic Press, London **2007**.

-
- ¹⁷ P. Atkins, J. de Paula. *Physical Chemistry*, 8th edition, Oxford University Press, Oxford **2006**.
- ¹⁸ http://www.uochb.cz/web/document/cms_library/747.pdf, staženo 7. 5. 2011.
- ¹⁹ A. E. Merbach, É. Tóth. *The Chemistry of Contrast Agents in Medical Magnetic Resonance Imaging*, Jon Wiley & Sons, Chichester **2001**.
- ²⁰ A. P. Koretsky, A. C. Silva. *NMR Biomed.*, **2004**, 17, 527.
- ²¹ É. Tóth, L. Helm, A. E. Merbach. *Metal Complexes as MRI Contrast Enhancement Agents in Comprehensive Coordination Chemistry II*, Elsevier, Oxford **2004**.
- ²² H. B. Na, I. Ch. Song, T. Hyeon. *Adv. Mater.*, **2009**, 29, 2133.
- ²³ N. A. Bock, F. F. Paiva, A. C. Silva. *NMR Biomed.*, **2008**, 21, 473.
- ²⁴ B. Drahoš, I. Lukeš, É. Tóth. *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2012**, 1975-1986.
- ²⁵ B. Drahoš, J. Kotek, P. Hermann, I. Lukeš, É. Tóth. *Inorg. Chem.*, **2010**, 49, 3224-3238.
- ²⁶ D. D. Perrin, W. L. F. Armarego. *Purification of Laboratory Chemicals*, 3rd edition, Pergamon Press, New York **1988**.
- ²⁷ R. R. Gagné, C. A. Koval, G. C. Lisensky. *Inorg. Chem.*, **1980**, 19, 2854-2855.
- ²⁸ K. Izutsu. *Electrochemistry in Nonaqueous Solutions*, Wiley-VCH, **2002**.
- ²⁹ H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman. *J. Org. Chem.*, **1997**, 62, 7512.
- ³⁰ G. M. Hledrick. *SHELXL-97, A Computer Program for Refinement of Crystal Structures*. University of Göttingen, Göttingen, **1997**.
- ³¹ A. L. Spek. *PLATON – A Multipurpose Crystallographic Tool*, Utrecht University, **2005**.
- ³² M. Paúrová. *Diplomová práce*, PŘF UK, Praha, **2012**.
- ³³ G. R. Weisman, S. C. H. Ho, V. Johnson. *Tetrahedron Lett.*, **1980**, 21, 335–338.
- ³⁴ E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. P. Reed, M. E. Rogers, J. S. Condon, M. A. Fagan, J. C. Calabrese, K. Ch. Lam, I. A. Guzei, A. L. Rheingold. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 10561.
- ³⁵ J. Kotek, *Diplomová práce*, PŘF UK, Praha **1999**.
- ³⁶ J. Plutnar, *Disertační práce*, PŘF UK, Praha **2007**.

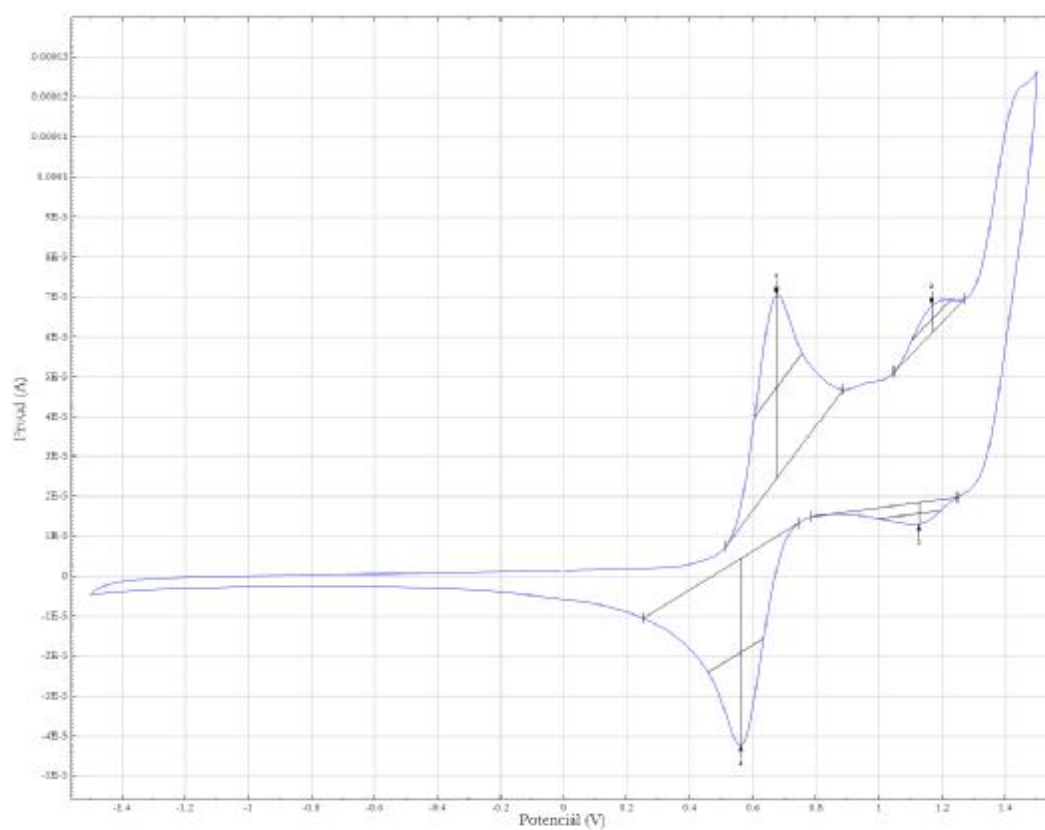
-
- ³⁷ R. Ferdani, D. J. Stigers, A. L. Fiamengo, L. Wei, B. T. Y. Li, J. A. Golen, A. L. Rheingold, G. R. Weismann, E. H. Wong, C. J. Anderson. *Dalton Trans.*, **2012**, 41, 1938-1950.
- ³⁸ J. Koteck, P. Hermann, P. Vojtíšek, J. Rohovec, I. Lukeš. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **2000**, 65, 1039-1045.
- ³⁹ J. D. Silversides, R. Smith, S. J. Archibald. *Dalton Trans.*, **2011**, 40, 6289-6297.
- ⁴⁰ H. T. Witteveen, B. Nieuwenhuijse, J. Reeddijk. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, **1974**, 36, 1535.
- ⁴¹ T. J. Hubin, J. M. McCormick, S. R. Collinson, N. W. Alcock, D. H. Busch. *Chem. Commun.*, **1998**, 1675-1676.
- ⁴² T. J. Hubin, J. M. McCormick, S. R. Collinson, N. W. Alcock, H. J. Clase, D. H. Busch. *Inorg. Chim. Acta*, **2003**, 346, 76.
- ⁴³ J. D. Silversides, B. P. Burke, S. J. Archibald. *C. R. Chimie*, **2013**, 16, 524-530.
- ⁴⁴ J. E. Sprague, Y. Peng, A. L. Fiamengo, K. S. Woodin, E. A. Southwick, G. R. Weisman, E. H. Wong, J. A. Golen, A. L. Rheingold, C. J. Anderson. *J. Med. Chem.*, **2007**, 50, 2527-2535.
- ⁴⁵ T. J. Hubin, J. M. McCormick, S. R. Collinson, M. Buchalova, C. M. Perkins, N. W. Alcock, P. K. Kahol, A. Raghunathan, D. H. Busch. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**, 122, 2512-2522.
- ⁴⁶ W. Niu, E. H. Wong, G. R. Weisman, D. C. Hill, D. J. Tranchmontagne, K.-C. Lam, R. D. Sommer, L. N. Zakharov, A. L. Rheingold. *Dalton Trans.*, **2004**, 3536-3547.

9 Přílohy

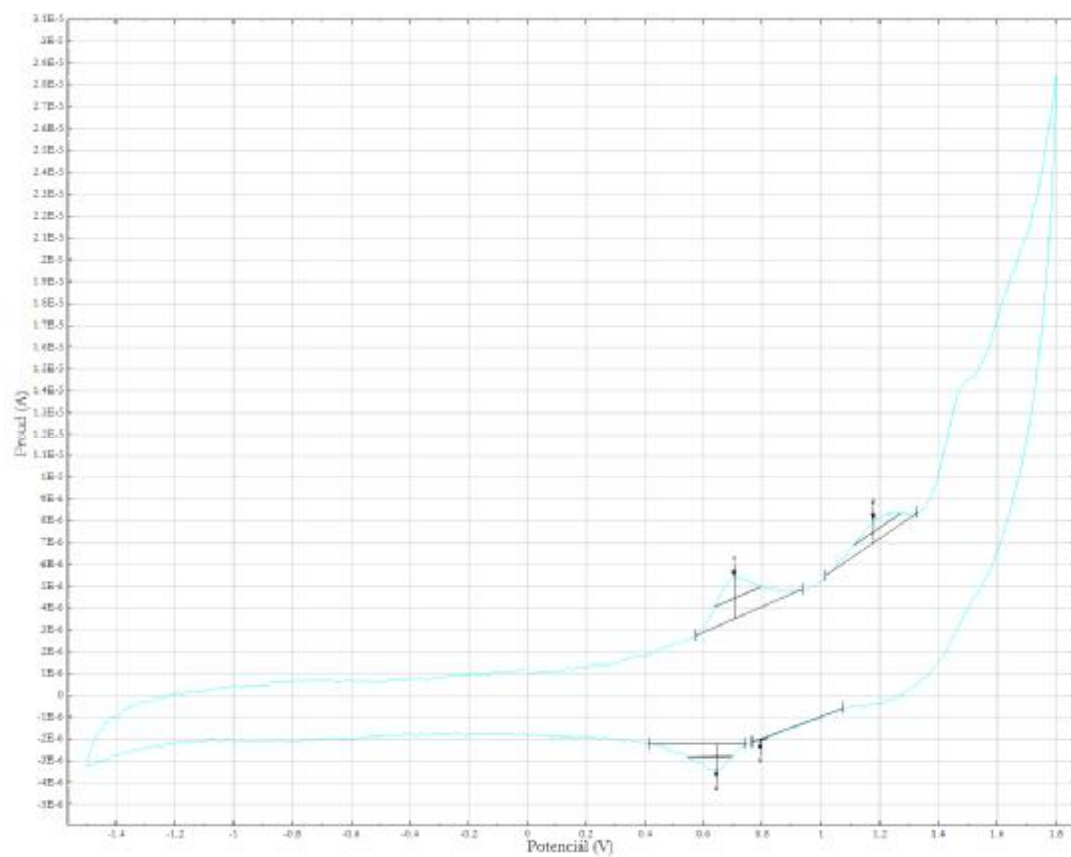
Graf 9.1 Cyklovoltamogram komplexu MnCl_2 v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



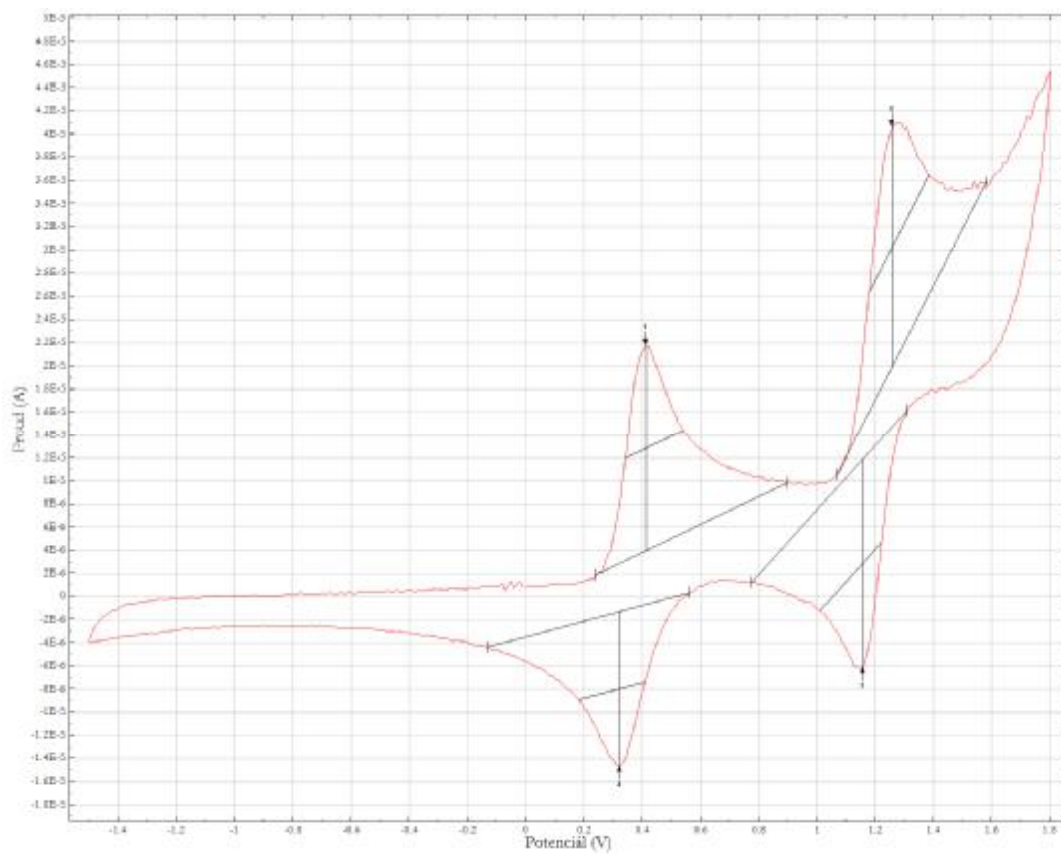
Graf 9.2 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



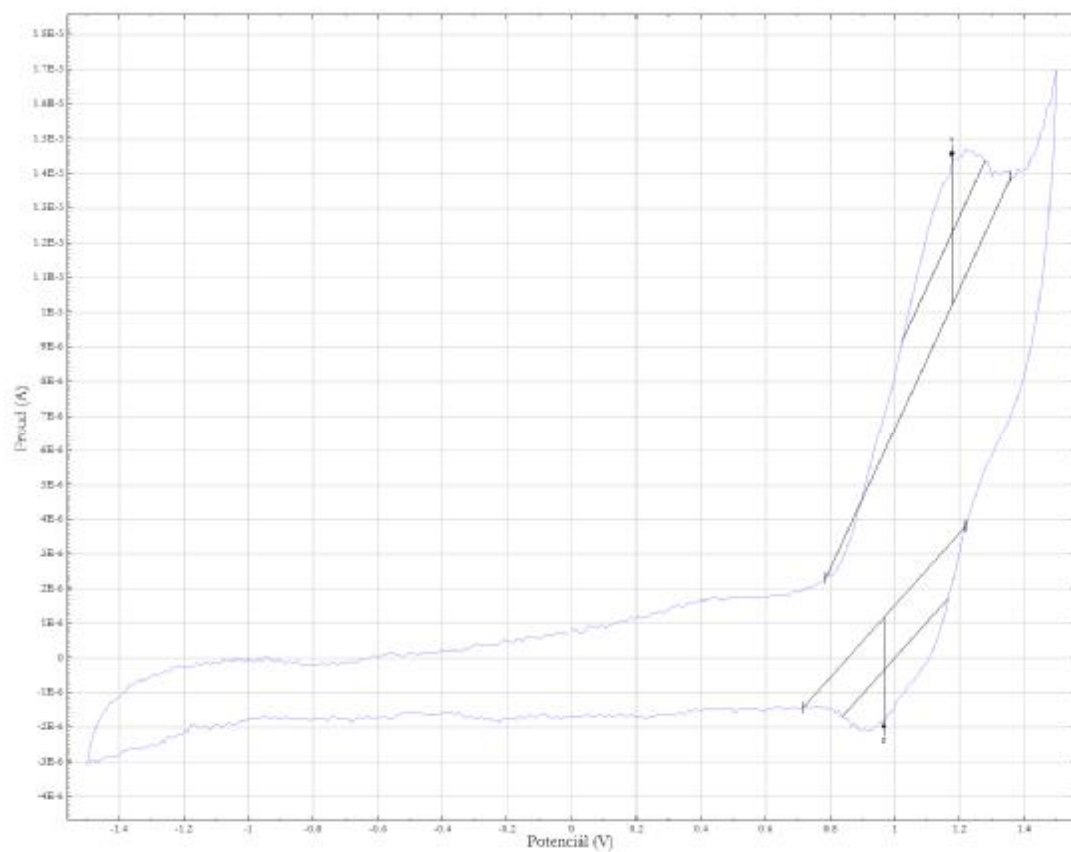
Graf 9.3 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(7)Cl}_2]$ v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



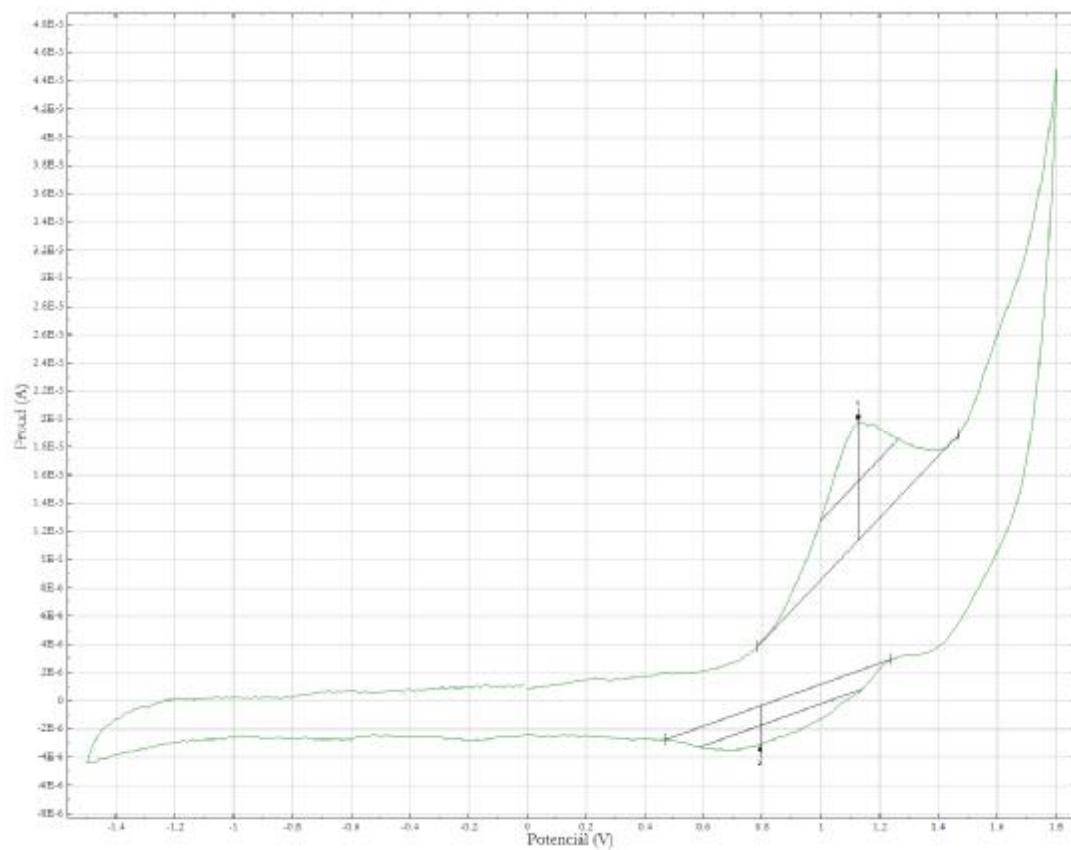
Graf 9.4 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



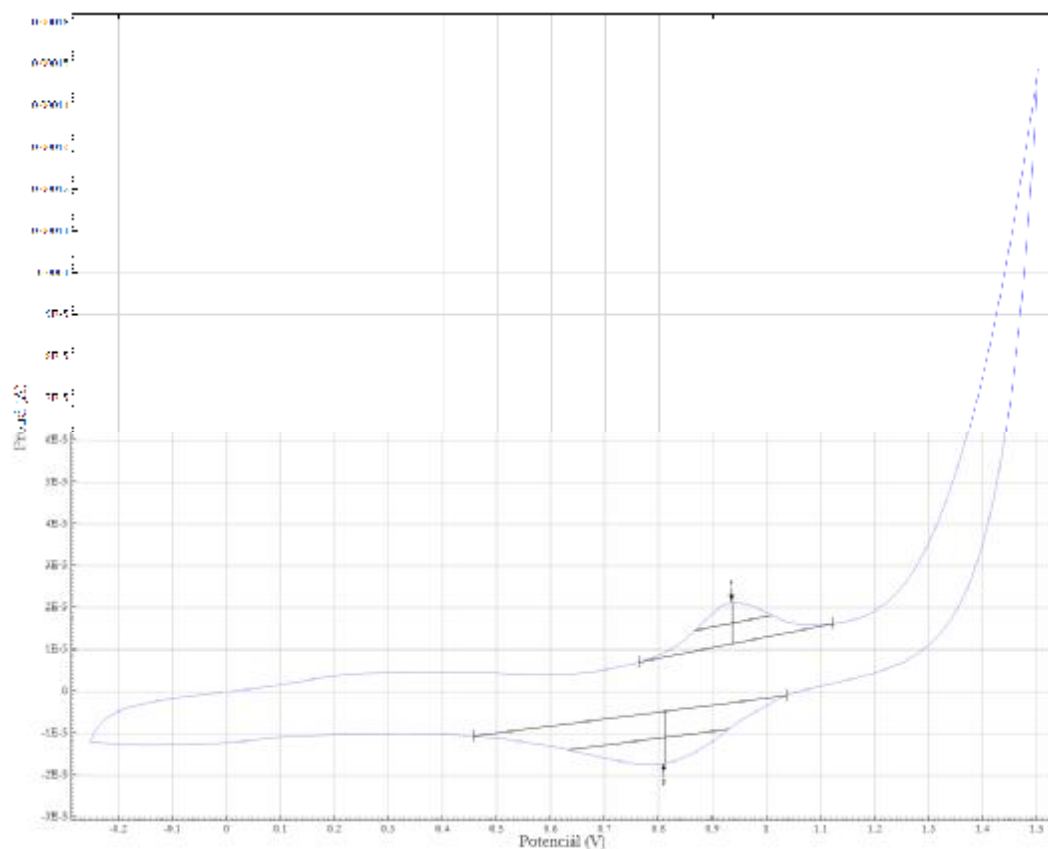
Graf 9.5 Cyklovoltamogram komplexu [Mn(9)] v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



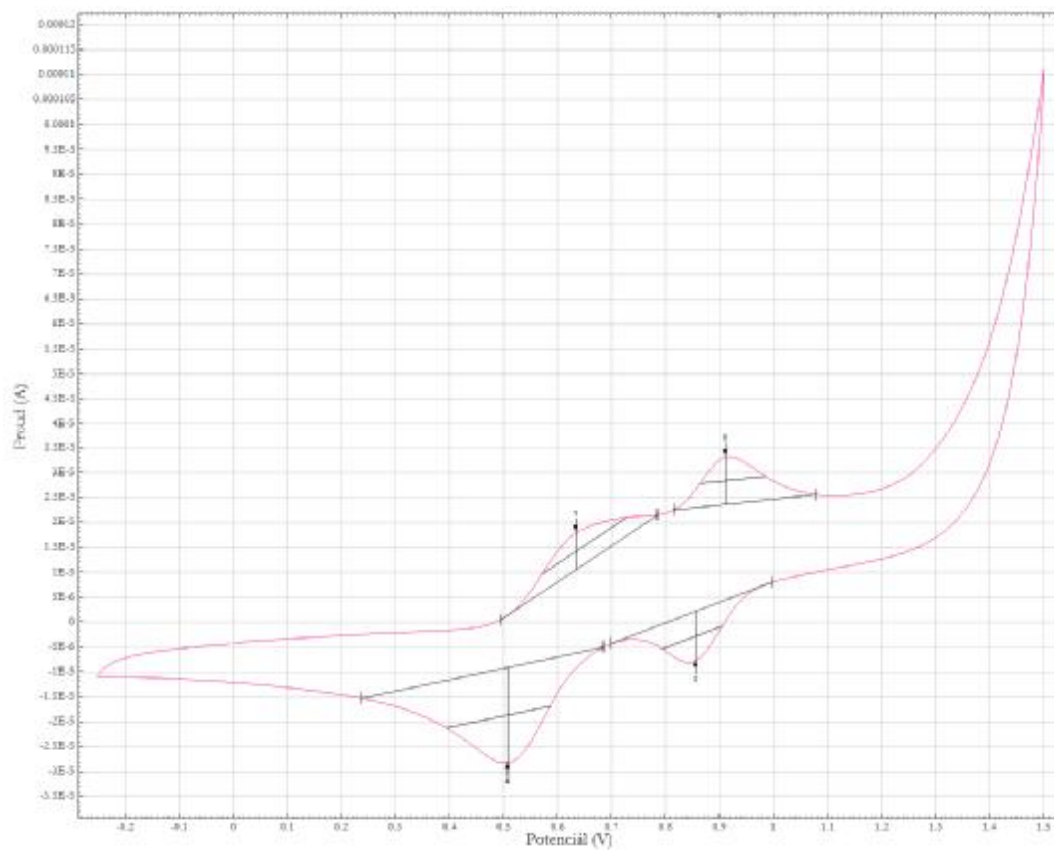
Graf 9.6 Cyklovoltamogram komplexu [Mn(10)] v acetonitrilu při rychlosti 100 mV s^{-1}



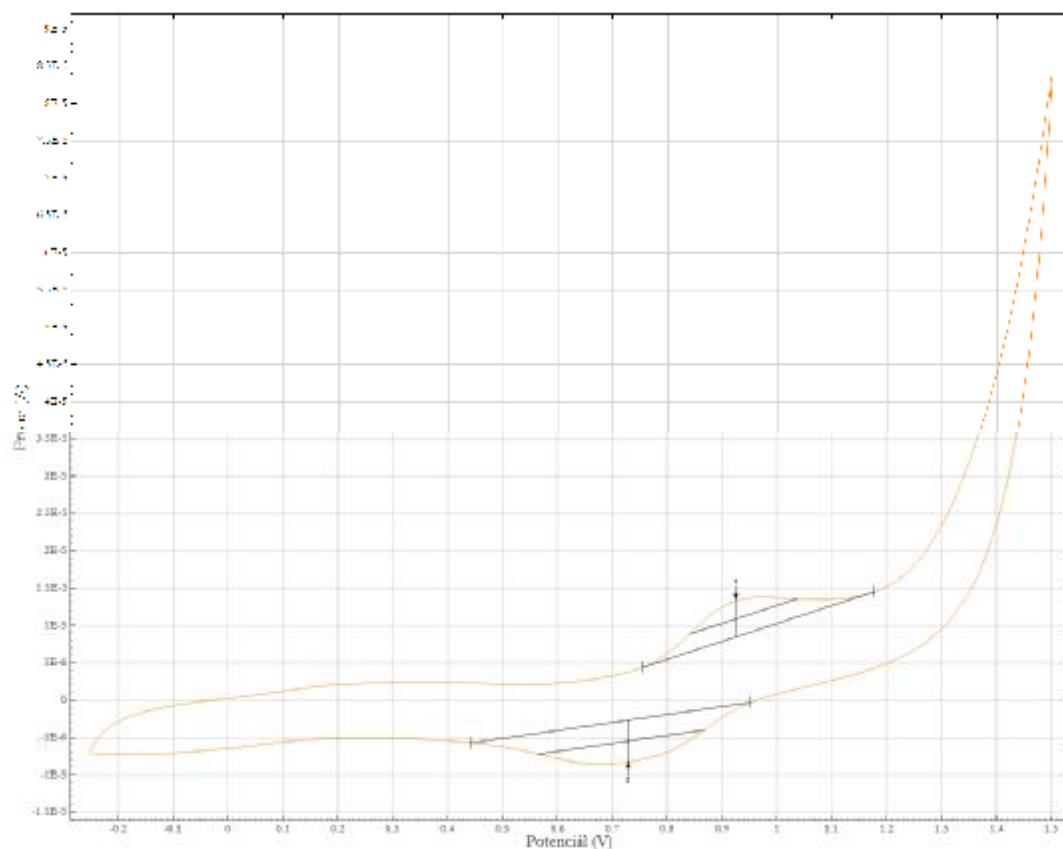
Graf 9.7 Cyklovoltamogram MnCl_2 ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



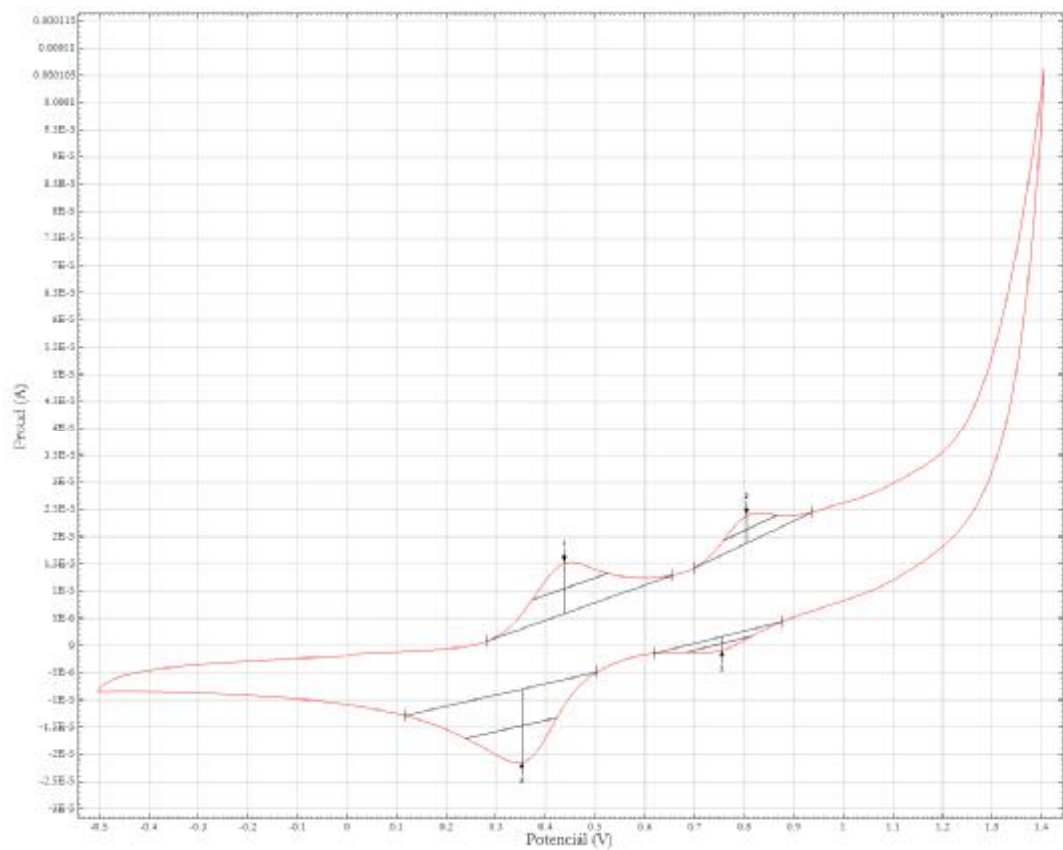
Graf 9.8 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



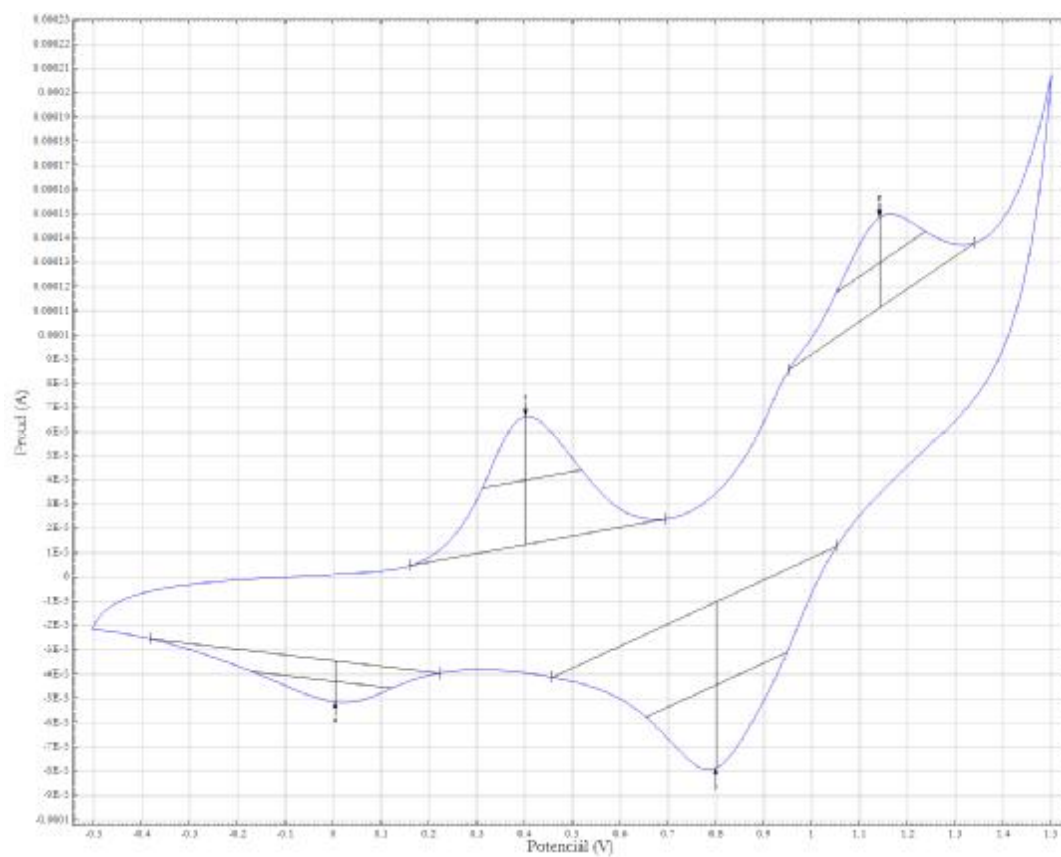
Graf 9.9 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(7)Cl}_2]$ ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



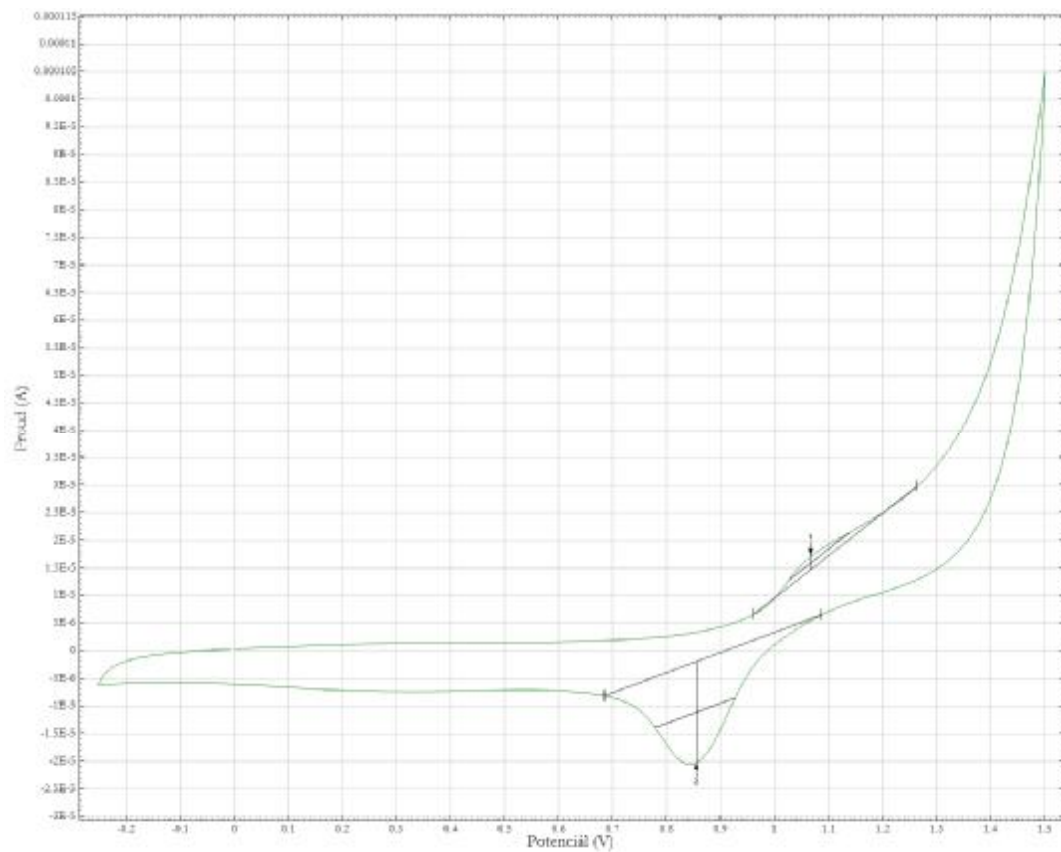
Graf 9.10 Cyklovoltamogram komplexu $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



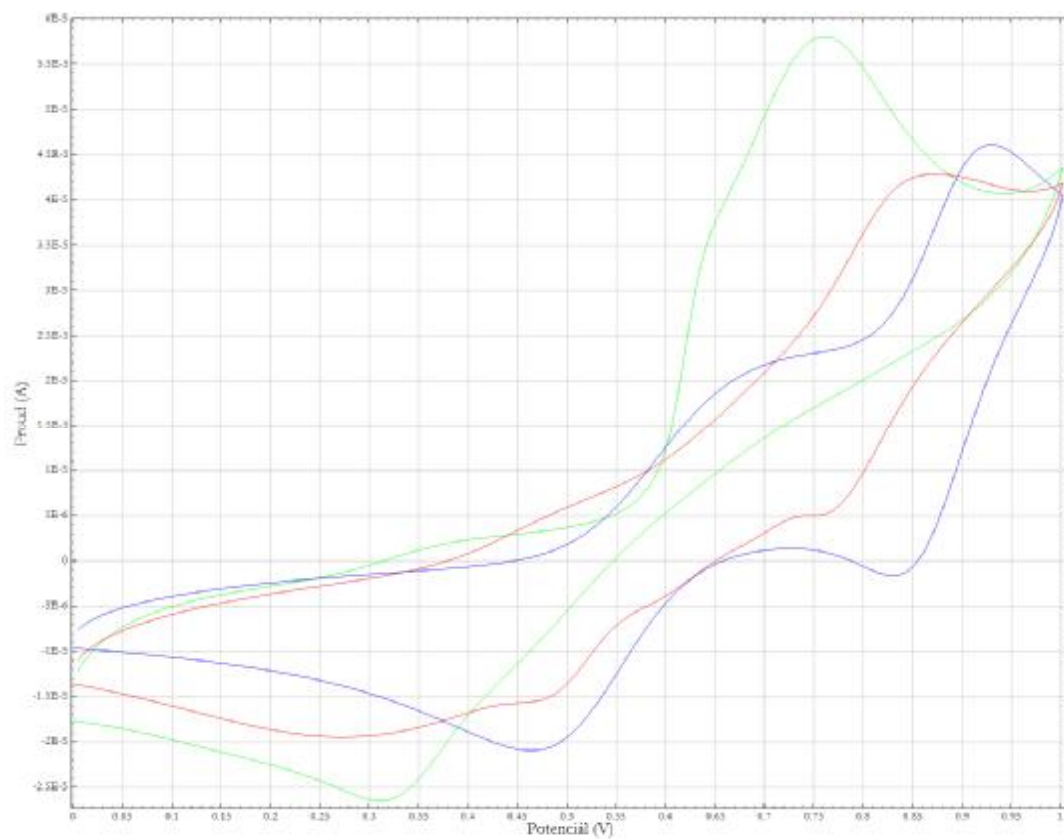
Graf 9.11 Cyklovoltamogram komplexu [Mn(9)] ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



Graf 9.12 Cyklovoltamogram komplexu [Mn(10)] ve vodě při rychlosti 100 mV s^{-1}



Graf 9.13 Cyklovoltamogramy komplexu $[\text{Mn(6)Cl}_2]$ ve vodě při rychlosti 250 mV s^{-1} ; modrá pH 2,95; červená pH 4,95, zelená pH 6,97



Graf 9.14 Cyklovoltamogramy komplexu $[\text{Mn(8)Cl}_2]$ ve vodě při rychlosti 250 mV s^{-1} ; modrá pH 3,06; červená pH 4,93, zelená pH 6,76

